

Aus der Abteilung für Strahlenbiologie und Isotopenforschung
(Leiter: Prof. Dr. Dr. E. H. Graul)

am Strahleninstitut der Philipps-Universität Marburg/Lahn
(Direktor: Prof. Dr. R. du Mesnil de Rochemont)

THESIS

MARBURG

1965

Untersuchungen über Speicherfunktion und Strahlenbiologie der phagocytierenden Zellen in der Kaninchenlunge

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg/Lahn

vorgelegt von

Klaus Joseph
aus Göttingen

Marburg 1965

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Aus der Abteilung für Strahlenbiologie und Isotopenforschung
(Leiter: Prof. Dr. Dr. E. H. Graul)
am Strahleninstitut der Philipps-Universität Marburg/Lahn
(Direktor: Prof. Dr. R. du Mesnil de Rochemont)

Untersuchungen über Speicherfunktion und Strahlenbiologie der phagocytierenden Zellen in der Kaninchenlunge

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg/Lahn

vorgelegt von

Klaus Joseph
aus Göttingen

Marburg 1965

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 23. Juni 1965

gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof.Dr.med.H.Hensel

Referent: Prof.Dr.med.Dr.rer.nat.E.H.Graul

Correferent: Prof.Dr.med.R.du Mesnil de Rochemont

I. Teil:

Das Reticulo-Endotheliale System	Seite:
<u>Kapitel I: Geschichte des Begriffes</u>	
A: Gemeinsamkeit der Funktion	1
B: Einheitlichkeit der Struktur und der Abstammung	2
C: Die Speicherzellen der Lunge und deren Bedeutung	3
<u>Kapitel II: Funktionen des RES</u>	
A: Rolle des RES im Eisenstoffwechsel	6
B: Anteil des Systems am Cholesterinstoffwechsel	7
C: Bedeutung des RES in der Infektabwehr	7
<u>Kapitel III: Die Phagocytose</u>	
A: Theorie der Phagocytose	8
B: Phagocytoseversuche als Funktionstest für das RES	12
C: Faktoren, die die Phagocytose beeinflussen	15
D: Gültigkeit der Speicherversuche als Funktionstest	18
E: Mathematische Ansätze zur exakten Beschreibung des Speichervorganges nach HALPERN. Grenzbestimmung der Gültigkeit für unsere Versuchsanordnung	20
<u>Kapitel IV: Strahlenbiologie des RES</u>	24

II. Teil:

Experimenteller Teil:	
A: Inhalationsversuche mit radioaktivem <u>Eisenstaub</u>	
a) Zielsetzung der Versuche	29
b) Methodik (Meßtechnik, Tiermaterial und Autoradiographie)	29
c) Beschreibung der Versuche	30
d) Ergebnisse der Versuche	30
e) Diskussion der Ergebnisse	31

B: Untersuchungen über die Phagocytose am isolierten Herz-Lungen-Präparat des Kaninchens unter Verwendung von denaturiertem ^{131}J -Albumin

a) Zielsetzung der Versuche 32

b) Methodik

1. Herstellung einer kolloidalen ^{131}J -Albuminlösung (Markierung und Präparation) 32
2. Tiermaterial 34
3. Gewinnung des Herz-Lungen-Präparates 34
4. Beschreibung der Versuchsanordnung 35
5. Meßtechnik 36
6. Schema der Auswertung 37

c) Versuchsgruppen

1. Versuche zur Ermittlung des Blutvolumens im Herz-Lungen-Präparat 39
2. Versuche zur Bestimmung der "kritischen" Dosis und Vergleich der Speicherfunktion bei unterschiedlichen Angebot speicherbarer Substanz (Ergebnisse und Diskussion der Ergebnisse) 40

C: Verhalten der Speicherfähigkeit phagocytierender Zellen im Herz-Lungen-Präparat nach Ganzkörperbestrahlung mit verschiedenen Dosen

a) Zielsetzung der Versuche 42

b) Ergebnisse der Versuche nach Ganzkörperbestrahlung mit 600r 43

c) Ergebnisse der Versuche nach Ganzkörperbestrahlung mit 100r 44

d) Diskussion der Ergebnisse der Versuche nach Ganzkörperbestrahlung 45

Zusammenfassung: 49

Abbildungen: 50

Literaturverzeichnis: I

Lebenslauf: VIII

I. Teil: Das Reticulo-Endotheliale System.

1. Kapitel

Seit METSCHNIKOFFS Untersuchungen an Gewebsmakrophagen hat das Phänomen der Phagozytose und damit auch die nähere Bestimmung der dazu befähigten Zellen viele Autoren beschäftigt. In vielen Organen wurden sog. Phagozyten nachgewiesen, doch konnte kein Zusammenhang zwischen diesen verstreuten Elementen nachgewiesen werden.

Als RIBBERT 1904 die färberische Darstellung der reticulären Zellen mit Lithiumkarmin gelang, war damit ein Anhalt für die morphologischen Gemeinsamkeiten der verstreuten, in ihrer Funktion ähnlichen Zellen gegeben. Eine Einteilung aller zur Speicherung granulärer Farbstoffe befähigten Zellen nach dem Ausmaß ihrer Farbstoffaufnahme versuchte KIYONO. Sie wurde später von FRESEN (1947) und LETTERER (1952) gering modifiziert. ASCHOFF subsumierte die gestaltlich nur teilweise ähnlichen Zellen gleicher Funktion unter dem Oberbegriff des Reticulo-Endothelialen Systems (RES). Funktionelle Übereinstimmung fand er bei Reticulumzellen in Knochenmark, Milz, Lymphknoten und Thymus, bei Endothelien der Milz- und Lymphsinus, der Kapillaren der Leber (Sternzellen), des Knochens, der Nebennierenrinde und der Hypophyse. Umstritten blieb der Begriff des speichernden sog. Endothels. Diese Zellen sollen nur morphologisch Ähnlichkeit mit echten Endothelzellen haben, in der Funktion den Reticulumzellen gleichen. Ihre Abstammung bleibt im Dunkeln. Als jedoch funktionelle Übereinstimmungen hinsichtlich der Speicherefähigkeit zwischen echten Endothelzellen und ihnen gestaltlich ähnlichen reticulären Uferzellen berichtet wurden, ging JAFFE so weit, diese verschiedenen Zellen einander gleichzusetzen. FRESEN gelang jedoch der Nachweis, daß echte Endothelzellen niemals unter den gleichen Bedingungen speichern, bei denen reticuläre Zellen diese Funktion erfüllen. Nur ein extrem hohes Farbstoffangebot kann Endothelzellen - wie im übrigen auch Parenchymzellen! - zur Speicherung granulärer Farbstoffe bewegen. Die "endothelialen" Elemente des RES sind nach FRESEN reticuläre Uferzellen, wie sie sich vor allem in den Sinusoiden finden, und unterscheiden sich sowohl funktionell als auch morphologisch deutlich von echten Endothelzellen.

Das ASCHOFFsche System behält jedoch nach wie vor seine Gültigkeit, doch ist man vielerorts geneigt, den fehldeutbaren Namen RES durch andere zu ersetzen. Der neue sollte deutlich die Hauptbestandteile des Systems und deren gemeinsame Strukturmerkmale zum Ausdruck bringen. Die FERRATA-Schule hat die Bezeichnung "Reticulo-Histiozytäres System" vorgeschlagen, der einige Autoren heute den Vorzug geben (ROHR, LETTERER, FRESEN). Sie enthält den Begriff der Reticulumzelle, diese sollen sich in Histiozyten umwandeln können, denen nach FRESEN allein die Fähigkeit der Phagozytose größere Fremdkörper zukommt.

Die funktionelle Gemeinsamkeit aller Bestandteile des Systems war seit langem offenkundig, das Vorhandensein gemeinsamer Strukturmerkmale wurde jedoch bezweifelt. Heute scheint festzustehen, daß das sog. RES grundsätzlich aus Reticulumzellen in besonderer Anordnung aufgebaut ist. Es wird als Reticulärsyntialfibrillärer Zellverband aufgefaßt (FRESEN).

Wir bleiben im folgenden der ASCHOFFschen Bezeichnung treu, da sie die immer noch gültige Vorstellung eines Abwehrsystems enthält, dessen Elemente über den Gesamtorganismus verstreut sind, die Subsumption also unter dem Begriff gemeinsamer Funktion erfolgt, während über Gemeinsamkeit der Abstammung und Gestalt heute nicht mehr gültiges ausgesagt wird. Da dem biologischen Grundgesetz von der Entsprechung ähnlicher oder gleicher Funktion und ähnlicher oder gleicher Gestalt diese Konzeption nicht genüge tut, nehmen wir die oben angedeuteten Vorstellungen anderer Autoren zu Hilfe. Wenn wir also im folgenden den Begriff "RES" gebrauchen, so meinen wir damit die Summe aller zur Phagozytose befähigten Reticulumzellen, lassen bewußt die der Antikörperbildung fähigen plasmazellulären Reticulumzellen außerhalb eingehender Betrachtung.

Es sei hier noch kurz auf Abstammung und Entwicklung der zum System gehörigen Zellen hingewiesen. Ihre Stammzellen sind wohl in den pluripotenten embryonalen Mesenchymzellen zu suchen, die sich u.a. auch zu jugendlichen Reticulumzellen differenzieren können. In der Einteilung der weiteren Entwicklungsstufen und -richtungen halten wir uns an ROHR. Er unterscheidet jugendliche Reticulumzellen und lymphoide Reticulumzellen von phagozytie-

renden R-Zellen und solchen plasmazellulärer Gestalt. Die beiden letzteren, ausdifferenzierten Formen haben ihren gemeinsamen Ursprung in der undifferenzierten Reticulumzelle. Die lymphoiden Reticulumzellen können sich wahrscheinlich zu den phagozytierenden Formen umwandeln. Phagozytose und Antikörperbildung, zwei wichtige Vorgänge des gesamten Abwehrgeschehens, stellen Funktionen zweier verschiedener Zellformen dar, über deren Synergismus später berichtet werden soll.

Der weitaus größte Teil des gesamten RES ist auf nur drei Organe verteilt, auf Knochenmark, Leber und Milz. Elemente des Systems in anderen Organen erscheinen kaum praktische Bedeutung zu haben.

Seit langem sind jedoch in der Lunge reaktionsbereite Zellen der Abwehr bekannt. Eingeatmete Fremdkörper werden von bestimmten Alveolarepithelzellen phagozytiert (WOOD), intratracheal zugeführte Farbstoffe gelangen in den Nischenzellen zur Speicherung (BARGMANN). Diese der Phagozytose fähigen Zellen nehmen auch Stoffe auf, die ihnen auf dem Blutwege zugeführt werden. Diese Fähigkeit wird unter pathologischen Verhältnissen besonders deutlich: beim M. Niemann-Pick und beim M. Gaucher sind starke Lipoidstapelungen in Zellen des Alveolarepithels bekannt. Die sog. Herzfehlerzellen, mit Hämosiderin beladene Epithelzellen, lassen erkennen, wie eng der Zusammenhang zwischen Blutbahn und aufnahmebereiten Zellen der Lunge ist.

Die Fähigkeit der sog. Nischenzellen zu phagocytieren und ihre Ähnlichkeit mit mesodermalen Makrophagen haben zu einem lebhaften Streit um ihre Herkunft geführt. Von manchen Autoren werden sie als mesenchymale, aus dem Lungenbindegewebe oder aus der Blutbahn ausgewanderte Zellen aufgefaßt. POMICARD sieht sogar die gesamte Zellauskleidung der Alveole als mesenchymalen Schutzapparat der Lunge an. Hingegen stellt BARGMANN fest, daß die funktionelle Eigentümlichkeit der Speicherung noch keinen Hinweis auf die Abstammung gibt, speichern doch sogar die unbestreitbar entodermalen Epithelzellen der Bronchien unter bestimmten Umständen. Diese Speicherung ist jedoch keinesfalls der Speicherungsfunktion der zum RES gehörigen Zellen gleichzusetzen, erfolgt sie doch unter einem riesenhaften Angebot speicherbarer Substanz. (näheres s. Kap. Theorie d. Phagozytose) Es erscheint

nach der begründeten Ausschließung des Endothels von Funktion und Bauweise des RES (FRESEN) als offenbar unmöglich, die Alveolarphagocyten vom Endothel abzuleiten. Die weiteren phagocytierenden Zellen, Nischenzellen und sog. Septalzellen (LANG, zit. von FRESEN), wurden für ausgewanderte Histiocyten gehalten. Sie sollten im Bedarfsfalle aus dem Lungenbindegewebe oder der Blutbahn austreten. Sie erscheinen aber viel früher in den Alveolen als die leicht beweglichen Leukocyten, danach erscheint die Theorie der Auswanderung unwahrscheinlich. Man wird sie als mobilisierte ortsständige Histiocyten auffassen müssen. Die gewöhnlich die Elemente des RES kennzeichnende reticuläre Gewebsstruktur fehlt, da diesen Zellen die für den reticulummzelligen Verband sonst nur fakultative Mobilität zur obligaten Eigenschaft geworden ist. Die reticuläre Struktur ist nachzuweisen, wenn es im Rahmen der Systemhyperplasie zu differenziierten Wucherungen kommt (FRESEN).

Erscheint die Bedeutung des RES-Anteil der Lunge beim Gesamtabwehrgeschehen allgemein sehr gering, so gibt es jedoch Anhaltspunkte dafür, daß unter bestimmten Bedingungen den verhältnismäßig wenigen Phagocyten dieses Organs entscheidende Bedeutung zukommt. Wir haben oben schon erwähnt, daß dies bei bestimmten pathologischen Zuständen der Fall ist. Experimentell ergaben sich weitere Hinweise. DRINKER fand nach intravenöser Injektion kolloidalen Mangandioxyds die Hälfte des Kolloids in der Lunge gestapelt. Dieser Befund darf jedoch mit Recht stark bezweifelt werden, da er in nachfolgenden Untersuchungen nie bestätigt werden konnte. LUND, DERMAN, DOBSON, FINNEY, und in zahlreichen Arbeiten die Gruppe BENACERRAF-BIOZZI-HALPERN wiesen niemals mehr als 10 % des angebotenen Kolloids in der Lunge nach.

Schon 1932 wies BÜCHNER auf eine bedeutsame Rolle der Speicherzellen in der Lunge hin. Er konnte zeigen, daß kolloides Thoriumdioxyd (Thorotrast) zunächst vor allem in Leber und Milz gespeichert wird, in Trümmern zugrundegegangener Zellen in die Lungenkapillaren gelangt, und von "Alveolarphagocyten" aufgenommen wird. GRAUL und HUNDESHAGEN wiesen darauf hin, daß das Lungen-RES nicht nur ein wichtiges Aufnahme- sondern auch Ausscheidungsorgan für RES-affine Substanzen ist. Sie gaben auf jede nur mögliche Art parenteral mit verschiedenen Radionukliden

markierte Substanzen und fanden nachfolgend in den Lumina der Alveolen und der Bronchien kranzförmige autoradiographische Schwärzungen.

Außerordentliche Bedeutung und höchste Aktualität zugleich gewinnt die Rolle des Lungen-RES, wenn man an die Resorption von Aerosolen insbesondere solcher radioaktiver Art denkt. Eine große Menge feinstverteilter Verunreinigungen der Luft können via Trachea in den Körper eingebracht werden. Für diese bilden die Phagocyten der Lunge die erste Barriere, von deren Abwehrleistung es abhängt, ob der Organismus mit schädigenden Agentien überschwemmt wird. AURAND u. Mitarbeiter haben sich dieses Problems experimentell angenommen. Sie ließen Mäuse mit Thorium B beladene Aerosole inhalieren, zunächst über Minuten nur. 70 - 80 % der Aktivität fanden sie in der Lunge, im Mageninhalt nur 10 %. Auch nach Dauerinhalation waren 70 % der Aktivität noch in der Lunge nachzuweisen. Die Aktivität in der Lunge ging schnell (in 60 min.) zurück, ohne daß der Anteil im übrigen Körper anstieg. Aus diesen Ergebnissen wird die Bedeutung der Lungen als Barriere für inhalierte und Dekontaminationsorgan zugleich für inhalierte und, wenn man die Ergebnisse von BÜCHNER und von GRAUL u. HUNDESHAGEN berücksichtigt, auch für auf dem Blutwege herangebrachte Stoffe klar.

Funktionen des RES

Die Tätigkeit des RES beginnt mit der Phagocytose von Substanzen, die nach Aufnahme in die Zelle abgebaut werden. So ist diese Tätigkeit als essentielle Funktion des Reticulo-endothelialen Systems mit Recht herauszustellen, und die Abhängigkeit aller übrigen Funktionen von dieser zu betonen.

Wir wollen im Folgenden zunächst einen kurzen Überblick über die Rolle des RES bei Stoffwechselvorgängen und Infektabwehr zu geben versuchen. Sie scheint die eines Vermittlers zu sein. Stoffwechselvorgänge, die im Anschluß an die Aufnahme etwa von Erythrocyten, Fettröpfchen oder Bakterien ablaufen, lassen vermuten, daß KE-Zellen eine Vermittlerstellung zu anderen, nicht dem RES angehörenden Zellen einnehmen (PÖFFER), so zB. die Kupferschen Sternzellen zum Leberparenchym (GILBERT u. JOMIER, JAFFE' u. LEVINSON).

Eisenstoffwechsel:

Im Rahmen der Erythroklasie übernimmt das RES den Abbau der Erythrocytenfragmente (u.a. MIEBACHER). Bestimmend scheint dabei der Zustand der Erythrocyten zu sein, wenn auch die rein passive Rolle des RES in diesem Zusammenhang noch nicht sicher ist. So hat eine Verkleinerung des RES in der Gestalt der Splenektomie normalerweise keinen Einfluß auf das rote Blutbild (SINGER u. WEISZ). Ein pathologisch hoher Erythrocytenabbau bei erhöhter RES-Funktion ist noch nicht bewiesen (DOAN, KAZNELSON). Splenektomie bei experimenteller Bleivergiftung ruft über die therapeutische Wirkung hinaus einen Anstieg der Erythrocytenzahl hervor (PIRAIE).

Vor der Aufnahme der Erythrocyten steht deren Fragmentation (ROUS u. ROBERTSON). Dann erfolgt der Abbau des Hämoglobins und der Übertritt des Eisens in das Plasma bzw. dessen Einbau in die Eisendepots. Es ist jedoch nicht sicher, ob diese Leistung vom RES allein oder zusammen mit anderen Zellen vollbracht wird. Durch Stimulierung des RES mit Nikotinsäure konnte der Serum-Eisen- und -Bilirubin-Spiegel erhöht werden (BELSASSO, RISOLO u. ZUCCONI, GYDELL). Blockierung hemmt den Hämoglobinabbau und senkt den Serum-Eisen-Spiegel (STARKENSTEIN u. WEDEN, VANOTTI u. INHOLZ).

Cholesterinstoffwechsel:

Das im Darm resorbierte Cholesterin gelangt über den Ductus thoracicus in das Blut. An der Klärung der lipämischen Phase hat das RES Anteil (HÖFER). KEVEN, BIOZZI, BENACERRAF, STIFFEL u. HALPERN wiesen nach, daß die Clearance injizierten exogenen Cholesterins durch das RES den gleichen Gesetzen gehorcht, wie sie auch für Kolloide gelten. Nach der Blockierung bemerkten FELGENBAUM u. Mitarbeiter u. WADIELL u. Mitarbeiter eine Verlangsamung der Clearance und einen Anstieg des Serum-Cholesterin-Spiegels. Nach oraler Applikation ließ sich Cholesterin histologisch in den Kupfer-Zellen nachweisen (FRIEDMANN u. Mitarbeiter). Nikotinsäure, ein RES-Stimulans, beschleunigt die Blutclearance zugeführten Cholesterins (ALTSCHUL, HÖFER u. STEPHEN).

Abwehr von Infekten:

Die initiale Verteidigung gegenüber einer lokalen Infektion kommt den ortsständigen reticulo-endothelialen Elementen zu. In den ersten 12 Stunden tragen sie die Hauptlast, bis die Leukozyten zur Unterstützung herangeeilt sind. Die RE-Zellen müssen in diesen ersten Phasen allein die Beseitigung der Bakterien auf sich nehmen, später obliegt ihnen noch die Phagocytose größerer Fremdkörper und die Beseitigung von Zelltrümmern (TOMKINS u. GRILLO). Steht zunächst die Aufnahme von Bakterien und Endotoxinen im Vordergrund der Infektabwehr, so wird im weiteren Verlauf die Bildung spezifischer Globuline eine weitere Aufgabe dazu befähigter Zellen des RES sein. Es ließ sich nachweisen, daß die Aufnahme von Endotoxinen und Bakterien den bekannten Gesetzen der Phagocytose folgte.

Zum Abschluß dieses Kapitels seien noch einige experimentelle Beobachtungen erwähnt. Das RES wird durch wiederholte intravenöse Endotoxingaben stimuliert (HALPERN). Vorübergehende Blockade erhöht den toxischen Effekt von Endotoxingaben auf den Organismus (GOOD u. THOMAS, SMITH, THOMAS u. GOOD). Stimulierung des RES durch wiederholte Gaben kolloidaler Lösungen schwächt die Wirkung intravenös verabreichten Endotoxins (BIOZZI, HALPERN, BENACERRAF u. STIFFEL) ab.

Theorie der Phagocytose:

Die Erscheinung der Phagocytose, der Aufnahme von Fremdkörpern in das Zellinnere, war schon VIRCHOW bekannt, der von der "Vorazität" der Zellen sprach. Hatte er zunächst die Vorstellung, daß es sich dabei um ein rein mechanisches Hineinpressen von Partikeln, granulären Farbstoffen oder Bakterien, in die Zelle handele, so deutete er den Vorgang später als aktive Freßtätigkeit der Zelle.

Eingehender befaßte sich METSCHNIKOFF mit der Phagocytose. Er wies den Phagocyten eine entscheidende Rolle in dem Kampf zwischen Wirtsorganismus und Parasiten zu, und zeigte den engen Zusammenhang zwischen Freßtätigkeit und Immunitätsvorgängen auf.

Hatte er zunächst auch den fixen Bindegewebszellen phagozytäre Eigenschaften zugesprochen, so gab er später diese Ansicht auf und betonte, daß diese Eigenschaft nur den Leukocyten zukomme.

In der Folge wurde diese Anschauung allgemein anerkannt, wobei jedoch der Zusatz gemacht wurde, daß offenbar die mesenchymale Herkunft der Zellen entscheidend sei für die Entwicklung phagocytärer Fähigkeit, mithin auch hämatogene und histiogene Wanderzellen phagocytieren könnten. LUBARSCHEK betonte, "daß Phagocyten keine besondere Klasse von Zellen sind, sondern daß sie nur Tätigkeitszustände solcher aus besonderen Anlässen darstellten, die natürlich für bestimmte Zellen an bestimmten Stellen häufiger zustande kommen als für andere". Er postulierte, daß es keine Zellart gäbe, die nicht gelegentlich phagocytieren könne. Als Voraussetzung dafür ist nach seiner Meinung eine Lockerung im Zellverband anzusehen, die den Zellen eine freie Beweglichkeit gestatte. Folgerichtig erscheinen also die hämatogenen Wanderzellen als obligate Phagocyten, während fixe Bindegewebszellen nur unter Bedingungen phagocytieren, die ihnen eine gewisse Beweglichkeit erlauben, sie sind damit fakultative Phagocyten.

FRESENIUS konnte zeigen, daß nur bei extrem hohem Farbstoffangebot eine Speicherung in anderen als dem RES angehörenden Zellen auftrat. Unter diesen Bedingungen speicherten sogar Endothel- und Parenchymzellen, doch ist anzunehmen, daß es sich hier nur um die Auswirkung eines Konzentrationsausgleiches handelt. Wurde nämlich Farb-

stoff in niedriger Dosierung Versuchstieren intravenös appliziert, so konnte er später nur in Zellen des RES nachgewiesen werden. Hiermit ist erst eine spezifische Tätigkeit bestimmter Zellen gegeben: Aufnahme und Speicherung von Stoffen, die sich in niedriger Konzentration außerhalb der Zelle befinden. Diese Fähigkeit haben nur Elemente des RES und die Leukocyten, die allerdings nur kleinere Partikel in sich aufnehmen können.

Von den älteren Vorstellungen ist die METSCHNIKOFFs immer noch gültig, die besagt, daß nur Zellen mesenchymaler Herkunft Phagocytose zeigen.

Seit der Prägung des Begriffes "Phagocytose" herrscht Unklarheit darüber, ob diese als eine aktive Tätigkeit der Zelle aufzufassen sei oder als Erscheinungsform rein physikalisch-chemischer Kräfte. LUBARSCH bemerkt dazu, daß ihm diese Gegenüberstellung im Sinne eines kontradictorischen Gegensatzes weder richtig noch nötig erscheine. In dem Versuch, die Erscheinung der Phagocytose physikalisch-chemisch zu erklären, liege nicht notwendig ein Gegensatz zu der Erklärung der Fremdkörperaufnahme als "aktive" Tätigkeit der Zelle. Fasse man allerdings die Aktivität als Willenstätigkeit der Zelle auf, so werfe man eine rein metaphysische Frage auf, die mit naturwissenschaftlichen Methoden nicht zu lösen sei.

Voraussetzung für die Phagocytosetätigkeit der dazu befähigten Zellen ist nach den Untersuchungen CIENKOWSKI's ein adäquater Reiz, dessen Natur nicht eindeutig zu bestimmen war. NEUFELD glaubte, daß der mechanische Berührungsreiz allein nicht ausreiche, sondern daß spezifische chemische Reize entscheidend seien. Nahm LUBARSCH anfangs noch an, chemische Reize könnten bei der Aufnahme unbelebter Partikel (Farbstoffe, Rußteilchen) keine Rolle spielen, so gelang später HAMBURGER der Nachweis, daß auch dabei chemische Einflüsse bestimmend sind.

Er konnte zeigen, daß lipoidlösliche Stoffe besonders gute Stimulantien für Phagocyten sind. Genauere Vorstellungen über Zustandekommen und Wirkung solcher "Reize" fehlen jedoch in diesen Arbeiten.

Als OKUNEFF nachgewiesen hatte, daß die vom RES gewöhnlich gespeicherten Stoffe wie Trypanblau, Carmin, Cholesterin, Tusche, kolloidales Silber und Eisen, Erythrocyten und Bakterien die Fähigkeit haben, die Grenzflächen-spannung an der Berührungsfläche Wasser-Benzol und Was-

ser-Olivenöl zu erniedrigen und sich an diesen Grenzflächen anzureichern, deutete sich eine Erklärung des Vorganges an.

Man nahm ein physikalisch-chemisches Modell zu Hilfe: die Vorgänge an der Berührungsfläche von Mischphasen. Dabei stellte man sich die Zellmembran und die sie umgebende extrazelluläre Flüssigkeit als die einander berührenden Phasen vor. Die in der extrazellulären Flüssigkeit gelösten Stoffe wurden nun unter dem Gesichtspunkt ihrer möglichen Wirkung auf Grenzflächen, ihrer Grenzflächenaktivität, betrachtet.

Wir wollen kurz auf die allgemeinen theoretischen Vorstellungen von Grenzflächen und an ihnen wirksamen Kräften eingehen, um die Anwendung dieser Gesetze bei der Untersuchung der Phagocytose verstehen zu können.

Jeder Oberfläche kann freie Energie entnommen werden, deren Größe von der Oberflächengröße und -energie abhängt, somit muß ihre Entnahme grundsätzlich mit der Abnahme einer der beiden Größen einhergehen. Bei reinen Phasen kann sich die Spannung nicht freiwillig ändern; hier kommt also nur eine Oberflächenverkleinerung in Frage, deren Ziel allgemein die durch die Oberflächenspannung angestrebte Kugelgestalt ist. Durch stoffliche Verschiebung innerhalb einer Lösung kann jedoch eine Verkleinerung der Oberflächenspannung bei gleichbleibender Oberflächengröße erreicht werden dadurch, daß solche Stoffe aus dem Inneren der Lösung in die Grenzschicht eintreten, welche eine geringere Oberflächenspannung besitzen als das betreffende Lösungsmittel. Mit zunehmender Anreicherung wird die Oberflächenspannung der Lösung herabgesetzt. Die Berührungsfläche zweier Phasen wird also bei Herabsetzung der Oberflächenspannung einer der beiden vergrößert. Die Vergrößerung der Berührungsfläche und die sie bedingende Anreicherung von oberflächenaktiven Stoffen in der Grenzfläche, die Adsorption, bedeutet Vergrößerung der Kontaktmöglichkeit zwischen den in einer Phase gelösten Stoffen und der zweiten Phase.

Für die vom RES gewöhnlich gespeicherten Stoffe hat OAKUMEFF die Oberflächenaktivität nachgewiesen. Den oben aufgezeigten Gesetzmäßigkeiten zufolge müssen sie sich an der Oberfläche der extrazellulären Flüssigkeit, in der sie gelöst waren, anreichern; damit wäre eine vermehrte Kontaktmöglichkeit mit der Zelloberfläche gegeben.

Diese Adsorption sei eigentlich das, was bisher mit dem Begriff Phagocytose bezeichnet wurde, behaupten einige Autoren (FREUND, FENN, TAIT u. RHUMBLER, MUDD u. MUDD, McCUTCHON u. LUCKE, BERRY, DAVIS u. SPIES, BERRY u. HALLER, GORDON u. KATSCH, BERRY, STARR u. HALLER).

Andere Autoren wollten die Phagocytose als Ausdruck elektrochemischer Vorgänge verstanden wissen. Sie stützten sich auf die Tatsache, daß das RES elektronegative kolloidale Stoffe speichert. Zudem sind jene Stoffe, die von den reticulo-endothelialen Zellen im Rahmen ihrer Stoffwechselfunktion aufgenommen werden, im alkalischen Milieu des Organismus gewöhnlich relativ negativ geladen (Proteine, Cholesterin). Phagocytose heißt danach Anziehung negativ geladener Partikel durch die Positiv geladene Zelloberfläche. Nach SCHULEMANN stellen die Speicherzellen die natürlichen Anoden des Körpers dar.

Jede der angeführten Theorien erklärt jedoch nur einen Teilvorgang des komplexen Geschehens, das Phagocytose genannt wird. Infolge der Adsorption an Grenzflächen besteht für gelöste Partikel die Möglichkeit vermehrten Kontaktes mit den Grenzflächen der Zellen. Eine vorläufige Bindung an die Zellmembran könnte elektrischer Natur sein. Befriedigend erklärt sind also nur jene Schritte, die zur Anlagerung von Partikeln an die Phagocyten führen.

Entscheidende Bedeutung kommt jedoch erst der Aufnahme von Fremdkörpern in die Zelle zu! Eine Fülle von Beobachtungen (z.B. MAXIMOW, METSCHNIKOFF, LUBARSCHE) lassen den Schluß zu, daß es sich hierbei um eine aktive Zelltätigkeit handeln muß. Aktiv bedeutet hier Energie verbrauchend, die die Zelle im Rahmen ihres Stoffwechsels bereitstellen muß. Trifft diese Annahme zu, so müßte der Sauerstoffverbrauch einer phagocytierenden Zelle höher sein als der einer ruhenden. Den Nachweis hierfür erbrachten BALDRIDGE u. GERARD, wenn auch die Höhe der Differenz nicht der an anderen Zellarten gemessenen entsprach.

Die heutige Definition der Phagocytose als "Fähigkeit der Plasmamembran, feste Partikel zu umkleiden, um sie schließlich in dazu besonders befähigte Zellen aufzunehmen" (NETTER), erweist sich als Synthese der zunächst antithetisch einander gegenüberstehenden Theorien der Phagocytose, der rein physikalisch-chemischen Auffassung

und der einer aktiven Zelltätigkeit.

Untersuchungsmethoden des RES:

Über die herkömmlich histologisch-mikroskopischen Untersuchungsmethoden zu sprechen, erübrigt sich hier. Sie sind in einschlägigen Handbüchern dargestellt. Ihnen haftet der Nachteil an, daß sie nur zur Fixierung momentaner Zustandsbilder geeignet sind, daß sie über den Funktionsablauf an derselben Zelle keine Aussage gestatten. Man war so gezwungen, funktionelle Untersuchungsmethoden zu entwickeln.

In der Fülle der einschlägigen Untersuchungen kann immer eine einfache Modellvorstellung beobachtet werden. Unter der Annahme, daß die Phagocytose vom Fremdkörper die grundlegende Funktion des RES sei, mußte es also möglich sein, durch Bestimmung der Aufnahme applizierter speicherbarer Substanzen unter modifizierten Bedingungen auf den jeweiligen Zustand des Systems zu schließen. Es werden bekannte Mengen z.B. von Kolloiden Versuchstieren intravenös injiziert, und anschließend durch kontinuierliche Bestimmung der Konzentration des Kolloids im Blut die Schwundrate gemessen. Aus dem Ausmaß und dem Verlauf der Blutclearance kann auf den funktionellen Zustand des RES geschlossen werden unter der Voraussetzung, daß eine Reihe von später näher zu erörternden Faktoren beachtet werden, hier sei nur auf die Bedeutung der Menge des injizierten Kolloids und dessen Partikelgröße hingewiesen. Die nähere Betrachtung des Clearanceverlaufes über die Dauer des Versuches hin zeigte, daß in der Zeiteinheit unterschiedliche Kolloidmengen aus dem Blut schwanden. Der Abfall der Schwundraten erfolgte nicht linear, der Verlauf der Clearancekurven schien einer Exponentialfunktion zu gehorchen.

Anfänglich wurden in den Funktionsuntersuchungen granuläre Farbstoffe benutzt. Kongorot, Trypanblau, Evanblue, Carmin waren die bevorzugten Testsubstanzen, mit denen SIEGMUND 1929, FREUND 1930, HELD 1933, KOGA 1933, HYMAN u. PALDING 1954 ihre Untersuchungen über das RES durchführten. Der Farbstoffnachweis im Blut war jedoch wegen großer Fehlerbreite problematisch.

Einige Untersucher wandten Metallkolloide an. So benutzte von JANCOS 1931 kolloidales Gold. Eisenoxysaccharat und Mangandioxyd in kolloidaler Lösung wurden von DRINKER u. SHAW 1921, BIELING u. ISAAC 1922, SHEPPARD u.

WELLS, HAHN u. GOODELL 1947, GABRIELI u. HOLMGREN 1952 und von ZACHERL 1929 verwendet. LETTERER (1933) untersuchte die Wirkung elektrokolloidalen Kupfers auf das RES. Thoriumdioxid (Thorotrast) in kolloidaler Lösung war ein von vielen Autoren bevorzugtes Kolloid (BAUMANN u. SCHILLING 1931, DERMAN 1928, RADT 1931, RANDERATH u. SCHLESINGER 1932, ANDERS u. LEITNER 1932, BÜCHNER 1932, HANKE 1932/33, SENN 1933, HELD 1933, RISCHKE 1934, POHLE u. RITSCHIE 1934, HARRINGTON u. HUGGINS 1939, LEWIS 1954). War die Bewertung der Farbstoffversuche aus den oben erwähnten Gründen schwierig, so ergab sich auch bald, daß die mit Kolloiden ermittelten Ergebnisse der äußerst kritischen Betrachtung bedurften. LETTERER wies nach, daß z.B. kolloidales Kupfer für die Phagocyten sehr toxisch waren. Ein weiterer Nachteil dieser Versuche war der verhältnismäßig große Aufwand, der zum quantitativen Nachweis der Kolloide erforderlich war.

Die Verwendung von Radionukliden rein oder als Etiketten anderer Substanzen brachte eine große Erleichterung in der Nachweisteknik. Fürderhin genügten Aktivitätsbestimmungen in den zu untersuchenden Lösungen, um mit großer Genauigkeit die Konzentration der eingegebenen Substanzen festzustellen, deren spezifische Aktivität bekannt war. Aus der Fülle der vorliegenden Arbeiten seien hier nur einige beispielhafte erwähnt. Häufig wurde Radiogold in kolloidaler Lösung verwendet. (SHEPPARD, JORDAN u. HAHN 1951, VETTER, FALKNER u. NEUMAYER 1954, LAHR, OBSON, GLEASON u. TABERN 1955), weiterhin Isotope des Silbers, Yttriums und Zirkoniums (DOBSON u. Mitarbeiter 1949, LAHR u. Mitarb. 1955). Da jedoch die Größe der Partikel in einer Lösung sehr unterschiedlich war, suchte man nach anderen Testsubstanzen, die dem zu fordernden Optimum, Homogenität der Teilchengröße in einer Lösung, möglichst nahe kommen. In dem Chromphosphat, das mit ^{32}P markiert wurde, fand man ein geeignetes Kolloid, es wurde in der Folgezeit von vielen Autoren bei ihren Studien über die Phagocytose bevorzugt (u.a. GABRIELI 1951, DOBSON u. JONES 1952, BRAUER u. Mitarb. 1954). Über Versuche mit einer Reihe anderer Nuklide berichten KROOK 1956, HELLER 1953 und WEIJEL u. LUSKY 1956. Eine Übersicht über die bis 1956 angewandten Funktionstests, bei denen Radionuklide benutzt wurden, findet sich bei NÖLLER, HALPERN u. Mitarb. 1956, HÖFER u. VETTER 1958

geben erste Hinweise auf die Anwendbarkeit von Funktionsprüfungen des RES in der klinischen Praxis, z.B. zur Messung der Leberdurchblutung.

Die Verwendung von Radionukliden selbst oder mit ihnen markierter Substanzen verhilft zwar zu bequemen Nachweismethoden mit hoher Genauigkeit, jedoch lassen sich bei allen oben angeführten Kolloiden gewisse Nachteile nicht beseitigen, die auch inaktiven Substanzen anhaften. Es sind dies Toxizität und bei den meisten Inhomogenität der Partikelgröße. Zusätzlich verdient eine mögliche Strahlenbelastung Beachtung.

Auf den Untersuchungen von NEURATH, COOPER u. ERICHSON 1941, COOPER u. NEURATH 1943 und JOLLY u. BARBU 1949 folgend, die festgestellt hatten, daß sich bei Hitzedenaturierung von Albuminlösungen mikroskopisch sichtbare Molekülaggregate bilden, benutzten zuerst BENACERRAF u. Mitarb. 1957 in Speicherversuchen eine Suspension derartiger Albuminteilchen, die mit ^{131}I markiert waren. Sie konnten im Vergleich mit anderen Lösungen feststellen, daß die Phagocytose dieser Partikel nach denselben Gesetzen verläuft, nach denen auch die Aufnahme anderer Fremdkörper durch die Zellen des RES erfolgt. In einer großen Zahl von Arbeiten legte die BENACERRAF-BIOZZI-HALPERN-Gruppe die Vorzüge dieses Kolloids dar: keine Toxizität für die Zelle, gute Aufnahme und schneller Abbau durch die Phagocyten, dazu Stabilität der Suspension und homogene Teilchengröße und, bei geeigneter Meßanordnung, leichter Nachweis der Partikel infolge der Markierung mit ^{131}I . Zudem kann eine solche Suspension leicht und mit einfachen Mitteln hergestellt werden. Diese Vorteile haben uns dazu bewogen, unsere Untersuchungen über die Speicherfunktion des Lungen-RES mit kolloidalem ^{131}I -Albumin durchzuführen.

Faktoren, die die Phagocytose beeinflussen:

In den Hauptorganen des RES scheint das Verhältnis von Menge der reticulo-endothelialen Zellen zum Organgewicht weitgehend konstant zu sein (HÜFNER). So wird das relative Gewicht dieser Organe als Ausdruck der Größe des RES das Ausmaß der Phagocytose beeinflussen. Dieses berücksichtigen HALPERN 1954 und BENACERRAF 1957, indem sie den Phagocytoseindex (Maß für die Phagocytosebereitschaft des RES) entsprechend korrigieren.

Verteilungsstudien erbrachten keinen Anhalt dafür, daß die Teile des Systems in den einzelnen Organen unterschiedliche Speicherfähigkeit besitzen (POPLE u. FITSCHI 1934, GERSH 1938, JONES, WROBEL u. LYON 1944, GABRIELI 1952/55, KINSELY u. GIBBS 1953, ODELMAD, DOBSON u. JONES 1955, DILUZIO 1957, SPEPPARD u. Mitarb. 1947, DOBSON 1957; damit sind die bereits aus dem Jahre 1921 stammenden Ergebnisse von PRINKER u. SHAW und LUED, SPAW u. PRINKER bestätigt). Einen großen Einfluß auf die Phagocytose hat die Blutzirkulation. Erhöht sich das Blutangebot, so steigt ebenfalls die Clearance kolloidaler Substanzen. durch das RES (DOBSON 1952/57, HOLLOWAY 1955, BRAUER 1956), solange das Speichervermögen nicht überschritten wird. Nach BRAUER hat auch die Geschwindigkeit des Blutflusses Einfluß auf die Tätigkeit des RES. Er stellte fest, daß mit zunehmender Durchströmungsgeschwindigkeit die Aufnahme von Kolloiden geringer wird. Die Ergebnisse von HALPERN 1957, VETTER u. Mitarb. 1954 und von HÜFNER u. VETTER scheinen ihn zu bestätigen.

Der Einfluß einiger Pharmaka auf die Phagocytose wird durch deren Wirkung auf den Kreislauf erklärt (DOBSON 1952, HALPERN 1954). Die gleiche Erklärung gilt wohl auch für die nach Unterkühlung beobachteten Depressionen der Speichertätigkeit (HALPERN 1951/54, NÜLLER 1957, BRAUER 1957, DOBSON 1957).

Auf speziesbedingte Unterschiede weisen HALPERN u. Mitarb. 1954 hin.

Während beim Embryo die morphologischen Elemente des RES bereits nachzuweisen sind, so gibt es noch keinen Anhalt für deren Tätigkeit zu diesem Zeitpunkt (OSEFKO 1947). Die Funktionstüchtigkeit entwickelt sich jedoch in wenigen Monaten und nimmt bis zur Reife des Individuums zu, um im Alter wieder abzufallen (BENACERRAF u. Mitarb. 1957). Geschlechtsbedingte Unterschiede dergestalt, daß

bei Kaninchen weibliche Tiere eine höhere Phagocytose-aktivität aufweisen als männliche (BERNICK 1956), werden von BIOZZI 1957 und NICOL 1957 durch die RES-stimulierende Wirkung oestrogener Substanzen erklärt.

Einige Autoren berichten über eine Bevorzugung bestimmter Substanzen durch die Phagocyten. Wenn 131-I-Albumin zusammen mit Kohle angeboten wird, so werden die Albuminpartikel schneller aufgenommen (HALPERN 1954/57). Höher jodiertes Albumin wiederum wird geringer jodhaltigem vorgezogen (BIOZZI u. Mitarb. 1957).

Die Phagocytosegesetze gelten jedoch für alle Substanzen in gleicher Weise (BENACERRAF u. Mitarb. 1954).

Weitaus am häufigsten ist die Bedeutung der Größe der Partikel in den Testsubstanzen untersucht (DOBSON u. JONES 1952, BENHAMON u. Mitarb. 1958, GABRIELI 1952, KROOK 1956, NEUKOMM, LERCH u. JALLUT 1957, DOBSON 1957, ZILVERSMIT, BOYD u. BRUCE 1952, HÜFER u. VETTER 1958, BENACERRAF u. Mitarb. 1954). Danach scheint festzustehen, daß größere Teilchen schneller und bevorzugt gespeichert werden gegenüber kleineren. HÜFER 1959 gibt die untere Grenze für gerade noch speicherbare Substanzen bei einem Partikeldurchmesser von 5 μ an. Der Durchmesser darf jedoch nicht größer als 500 μ sein, da sonst eine Filterung des Blutes durch die Lungenkapillaren stattfindet. Diese obere Grenze scheint nach den Befunden von ERNST u. Mitarb. 1958 wesentlich höher zu liegen. Sie injizierten kolloidales Au 198 in Segmentarterien der Lunge. Teilchen von 50 μ verstopften die Lungenkapillaren, Teilchen unter 25 μ fanden sich kurze Zeit nach Injektion in Leber und Milz der Versuchstiere, müssen also die Kapillaren passiert haben.

Wir nehmen die obere Grenze der Speicherbarkeit bei einem Partikeldurchmesser von etwa 6 μ an, annähernd in der Größenordnung von Erythrocyten also.

Nach HELLER 1957 erscheinen Unterschiede zwischen den einzelnen Zellen des RES hinsichtlich der Aufnahme großer oder kleiner Partikel zu bestehen.

Entscheidend für den Ausgang der Speicherversuche ist der Funktionszustand des RES. Jede Manipulation an dem System verändert ihn! So sind eine Reihe von Faktoren geeignet, das RES zu erhöhter Funktionsbereitschaft zu stimulieren. Jede Schädigung, nach LETTERER 1934 sogar eine hochgradige, durch niedrige dosierte Röntgenbestrah-

lung (CALO 1933), durch toxische Substanzen (BENACERRAF u. Mitarb. 1954), oder durch Sättigungsdosen speicherbaren Kolloids oder heterogener Erythrocyten (DERMAN 1928, HANKE 1932, BENACERRAF u. Mitarb. 1954) regt die reticulo-endothelialen Zellen zur Proliferation an, so daß der gesetzte Schaden nicht nur kompensiert wird, sondern daß für einige Zeit ein hyperplastisches RES mit weit gegenüber der Norm erhöhter Funktion besteht (CALO 1933).

Die anfangs phagocytosesteigernde Wirkung experimenteller Infektionen (TOMKINS u. GRILLO 1953, BJOZZI u. Mitarb. 1954, HALPERN u. Mitarb. 1954) scheint ebenfalls auf einer reaktiven Hyperplasie des reticulo-endothelialen Gewebes zu beruhen. Antiproliferative Substanzen (Nitrogen-Mustard, Cortison), die auf das normale RES keinen Einfluß haben, verhindern nach Schädigung die Rückkehr der Funktion zur Norm für lange Zeit (BENACERRAF u. Mitarbeiter 1954).

Die Abhängigkeit der Phagocytosefunktion von Hypophyse und Nebennierenrinde prüften GORDON 1946 und REICHARD, EDELMANN u. GORDON 1956). Hypophysektomie führte zur Proliferation reticulo-endothelialer Zellen in Leber und Milz und damit zur Steigerung der Funktion. Adrenalektomie soll zwar die Aktivität des RES in der Leber erhöhen, in der Milz aber unterdrücken.

Hyperplasie und erhöhte Speicherfunktion des restlichen Gewebes wird durch Splenektomie erreicht (DERMAN 1928). Andere endokrine Organe haben wohl nur geringen Einfluß auf das RES; so ist die geringe stimulierende Wirkung oestrogener Stoffe bekannt (BIOZZI u. Mitarb. 1957, NICOL 1957). Testosteron verändert die Phagocytose nicht (HALPERN 1954). (Die Mikrophagocytose der Leukocyten wird durch Thyreoidektomie und Ovariectomie erheblich heruntergedrückt (ASHER). Einige weitere Faktoren von Einfluß sind die Stabilität der Testsubstanzen in der Lösung (DOBSON 1957, BRAUER 1957), etwaiger Zusatz von Stabilisatoren (DOBSON 1957) oder von Heparin (HALPERN 1957).

Abschließend sei erwähnt, daß trotz der Vielfalt der die Phagocytose direkt oder indirekt modifizierenden Faktoren die Beachtung einiger besonders wichtiger bei der experimentellen Anordnung genügt, um vergleichbare semiquantitative Ergebnisse zu erhalten. So können Aussagen über

das Verhalten des RES bei Tieren einer Spezies und gleichen Geschlechtes bei Gewichts- und Alterskonstanz unter den zu untersuchenden Bedingungen gemacht werden, wenn Dosis und Partikelgröße den zu fordernden Bedingungen entsprechen.

Gültigkeit der Speicherversuche als Funktionsprüfungen:

Jedes Angebot phagocytierbarer Stoffe bedeutet für die reticulo-endothelialen Zellen einen spezifischen Reiz, den sie mit Ausübung ihrer Funktion beantworten. Zu diskutieren ist, ob die Tätigkeit auch nur einzelner Zellen ein Anreiz zu erhöhter Funktionsbereitschaft des ganzen Systems ist. Diese könnte auf zwei Wegen erreicht werden, einmal durch Befähigung der Zelle zur Aufnahme größerer Mengen von Fremdkörpern, als sie normalerweise aufzunehmen in der Lage ist (GABRIELI u. AUSKAPS 1953), zum anderen durch Proliferation der Zellen.

NEUKOMM u. Mitarb. 1957 wiesen nach, daß mit jeder der zeitlich aufeinanderfolgenden Injektionen von Kolloiden die Phagocytoserate sank (sog. HALPERN-Effekt). Die aufeinanderfolgenden Injektionen wurden innerhalb einer Stunde gegeben, also in einer Zeit, in der eine Proliferation noch zu keinem nennenswerten Ergebnis geführt haben kann. Damit ist die erste These widerlegt, da sie eine Sättigung einer Zelle nicht kennt, die nach NEUKOMM aber eintritt. Das bestätigen auch HANKE 1932, HALPERN 1957 und BENACERRAF u. Mitarb. 1957. Aus ihren Untersuchungen geht außerdem hervor, daß das finale Verhalten des RES zu den injizierten Partikeln bestimmt wird durch die gesamte injizierte Dosis, daß es also gleichgültig ist, ob die Kolloiddosis auf einmal oder fraktioniert appliziert wird.

Die nahezu totale Absättigung hat jedoch für maximal 3 Tage nur Bestand, nach längstens 8 Tagen war die Speicherfunktion wieder normal (CALERIO 1931, ANDERS 1932, BENACERRAF u. Mitarb. 1957 und BIOZZI u. Mitarb. 1954/57) machen dafür die hohe Regenerationskraft des RES verantwortlich, die schon ASCHOFF hervorgehoben hat. Sie wiesen nach, daß die Funktion wiederhergestellt wird durch Bereitstellung neuer Zellen, daß somit der Ausfall auch großer Teile des RES durch erhöhte Proliferation kompensiert wird. Den Beweis lieferten Benacerraf u. Mitarb. 1957, die zeigen konnten, daß die Rückkehr der Funktion nach Absättigung des Systems wesentlich verzögert werden

kann durch antiproliferative Substanzen. Eine schwere Schädigung des RES durch Zerstörung der Zellen, die elektrokolloidales Kupfer phagocytiert hatten, (von JANCSO 1927), wird nach LETTERER 1933 in kurzer Zeit durch massive Regeneration aufgehoben. Er lehnte darum nach ausgedehnten Untersuchungen 1934 die Brauchbarkeit der Speicherversuche als Funktionsprüfungen ab. Die älteren Untersucher glaubten noch, das RES über lange Zeit hin blockieren zu können (DERMAN 1928, HANKE 1932, BUCHNER 1932). Ihre Ergebnisse haben sich jedoch nicht bestätigen lassen. Eine Blockade durch extrem hohe Dosen speicherbaren Materials ist nach BENACERRAF u. Mitarb. 1954, HALPERN u. Mitarb. 1954 sowie BIOZZI u. Mitarb. 1957 von höchstens 72 Stunden Dauer. In dieser Zeit der Blockade fallen die Funktionsproben negativ aus, steigen gegen deren Ende jedoch langsam wieder an. Die von BIOZZI u. Mitarb. 1957 beschriebene Parallelität von allmählicher Wiederkehr der Phagocytoseleistung und Gewichtsanstieg der die Masse des RES enthaltenden Organe (Leber, Milz) legen die Erklärung nahe. Das RES regeneriert sehr schnell, es zeigt meist Hypertrofie, so daß nach Ablauf von 8 Tagen nach Blockierungsversuch die Phagocytoseleistung weit über der Norm liegt.

Die Blockadeversuche stellen Extreme der üblichen Speicherversuche dar, doch dürfte auch bei diesen eine geringe, die Proliferation anregende Wirkung anzunehmen sein.

So sind die von LETTERER geäußerten Bedenken hinsichtlich der Brauchbarkeit der Speicherversuche als quantitative Funktionsanalysen des RES berechtigt. Sie sind in der Lage, den zu untersuchenden Gegenstand zu verändern, so daß wiederholte Untersuchungen am selben Objekt nicht miteinander verglichen werden können. Diese Bedenken können jedoch unberücksichtigt bleiben, wenn die wiederholten Untersuchungen in der Zeit aufeinanderfolgen, in der die Anregung der RES-Zellen zur Proliferation noch keine meßbare Änderung der Funktion bewirkt haben kann, und mit geringen Dosen gemacht werden, die eine nur minimale und in ihrer Auswirkung auf die Phagocytoseleistung des Systems zu vernachlässigende Veränderung des Gewebes bewirken.

Mathematische Ansätze zur Beschreibung der Phagocytose:
Fremdkörper von Dimensionen, die einen Durchtritt durch die Kapillaren unmöglich machen, aber eine Phagocytose erlauben, werden von den dem Blutstrom anliegenden Zellen des RES aufgenommen. Injiziert man eine bekannte Menge speicherbarer Substanz in die Blutbahn eines Versuchstieres, so kann durch kontinuierliche Konzentrationsbestimmung im Blut der Schwund dieses Stoffes bestimmt werden. Höhe und zeitlicher Verlauf des Konzentrationsabfalles sind ein Maß für die Speicherfunktion des RES. Die Betrachtung der Clearance ergab eine immer erkennbare Gesetzmäßigkeit, die von HALPERN 1951 als Exponentialfunktion formuliert werden konnte:

$$C(t) = C_0 \cdot 10^{-K \cdot t}$$

Dabei bedeutet $C(t)$ die Konzentration der Testsubstanz im Blut zum beliebigen Zeitpunkt t und C_0 die Ausgangskonzentration. Der Phagocytoseindex K ist ein Maß für die Phagocytosebereitschaft des RES. Er kann leicht mit Hilfe der Formel

$$K = \frac{\log C_1 - \log C_2}{T_2 - T_1}$$

berechnet werden. Hierbei sind C_1 und C_2 die zu den Zeiten T_1 und T_2 ermittelten Konzentrationen.

Der eingehenden Untersuchung des Phagocytoseindex nahm sich die Gruppe um HALPERN-BENACERRAF-BIOZZI an, die zunächst nach Faktoren suchten, die die Bereitschaft der Zellen zur Phagocytose beeinflussen können. Diese fanden sie in dem funktionellen Zustand des RES (Sättigung-Stimulierung) der Blutzirkulation und in der Natur, Größe und Menge der speicherbaren Partikel.

HALPERN u. Mitarb. (1951, 53, 54, 57), BENACERRAF u. Mitarb. (1954, 55, 57) und BIOZZI u. Mitarb. (1953, 54) führten eine große Anzahl von Versuchen durch zur näheren Bestimmung von K . Sie fanden, daß jeder Spezies ein nur für sie gültiges K eigen ist, das sich proportional dem Funktionszustand des RES ändert.

Diese Autoren konnten zeigen, daß die oben angeführten Gesetzmäßigkeiten erst oberhalb einer bestimmten Dosis (D) der speicherbaren Partikel deutlich werden; dann ergibt das Produkt aus dem Phagocytoseindex und der Kolloiddosis immer einen konstanten Wert ($K \cdot D = \text{const.}$). Da-

mit wurde der Begriff der "kritischen" Dosis geprägt. Für jedes Kolloid gibt es eine minimale Dosierung, bei der gerade noch eine Aufnahme nach den angeführten Phagocytosegesetzen erfolgt.

Der Mathematische Ansatz vorgenannter Autoren hat sich als richtig erwiesen. Bei der Übernahme der Formeln ist jedoch in unserem Falle zu prüfen, ob sie auch für einen Bruchteil des Gesamt-RES gelten, wie er unseren Experimenten in Gestalt des isolierten Herz-Lungen-Präparates zugrunde liegt. Bei den in vivo Versuchen ging man offensichtlich von der Annahme einer im Verhältnis zur injizierten Partikelzahl unendlicher Größe des RES aus. Das heißt, wenn wir zunächst die Anlagerung von Teilchen an die Zelloberfläche als Initialgeschehen der Phagocytose betrachten, die Zahl der besetzbaren Oberflächeneinheiten ist unendlich viel größer als die der sie zu besetzen strebenden Partikel. Also besteht für jedes Teilchen eine 100%ige Wahrscheinlichkeit der Anlagerung an eine Zelle und der Aufnahme in diese; selbst bei einem riesigem Angebot wird jedes Teilchen einmal phagocytiert werden, damit die Konzentration gegen 0 gehen. Es bedeutet sicher eine große Vereinfachung, sieht man das Problem der Phagocytose als Problem der Wahrscheinlichkeitsrechnung an, doch bietet diese Vorstellung immerhin ein brauchbares mathematisches Modell. Eine große Zahl besetzbarer Oberflächeneinheiten steht einer in den Versuchsordnungen unterschiedlichen Menge sie zu besetzen strebender Partikel gegenüber. Selbst bei großer Teilchenzahl wird nach einer bestimmten Zeit, die sich allerdings mit wachsender Zahl verlängert, jedes aufgenommen. Andere Gesichtspunkte ergeben sich dann, wenn einem relativ kleinen Platzangebot eine vergleichsweise große Zahl von Bewerbern gegenübersteht oder beide in etwa gleich groß sind. Wir müssen diese Vorstellung in unserer Versuchsanordnung gewinnen, denn es gelang uns bei unterschiedlichsten Kolloiddosen niemals, die Speicherung aller Teilchen zu erreichen. Damit muß das theoretische Modell geändert werden. Im folgenden wollen wir versuchen, die mathematische Formulierung für die Vorgänge der Speicherung am begrenzten, eingeschränkten RES zu finden.

Es sei w die Wahrscheinlichkeit dafür, daß in 1 sec. die Besetzung eines freien Platzes P durch eines der N Par-

tikel erfolgt; in einem kleinen Zeitintervall dt werden dann $w \cdot dt$ Plätze besetzt, während sich die Zahl N der freien Teilchen um $dN = -w dt$ verringert.

Wir setzen nun die Wahrscheinlichkeit w proportional sowohl der Anzahl der freien Plätze (P) als auch der Anzahl N der angebotenen Teilchen. Mit einer Proportionalitätskonstanten k ist dann

$$w = - \frac{dN}{dt} = k \cdot P_t \cdot N_t \quad (1)$$

P_t und N_t sind durch die für jedes t gültige Bedingung

$$N_0 - N_t = P_0 - P_t \quad (2)$$

miteinander verknüpft, wenn N_0 und P_0 die Werte zur Zeit $t = 0$ sind. Ferner ist in unserem Ansatz

$$N_0 \quad P_0 \quad (3)$$

Einsetzen von (2) in (1) ergibt

$$dN = -k (P_0 - N_0 + N)N \cdot dt ; \quad (4)$$

Integration von $t=0$ bis t und eine elementare Umformung führt zu der in mathematischer Strenge gültigen Formel

$$N_t = \frac{N_0 - P_0}{1 - \frac{P_0}{N_0} e^{-(N_0 - P_0) kt}} \quad (5)$$

aus welcher u.a. zu ersehen ist, wie N und N_0 (für $t=0$) auf $N_0 - P_0$ (für $t=\infty$) absinkt.

Mit $Y_t = \log N_t$ kann man (5) auch schreiben:

$$Y_t = \log (N_0 - P_0) - \log \left(1 - \frac{P_0}{N_0} e^{-(N_0 - P_0) kt} \right) \quad (6)$$

In der Näherung für große t kann man den 2. Summanden entwickeln, und es gilt näherungsweise

$$Y_t = \log(N_0 - P_0) + \frac{P_0}{N_0} e^{-(N_0 - P_0) kt} \quad (6a)$$

Hingegen gilt für kleine t ($t \ll \frac{1}{P_0 k} ; \frac{1}{(N_0 - P_0) k}$),

wie man durch Reihenentwicklung der e -Funktion und des $\log$ erhält,

$$Y_t = \log^e (N_0 - P_0) kt \quad (6b)$$

Formel gibt den linearen Abfall bei kleinen t an.

Führen wir noch den Logarithmus zur Basis 10 ein und definieren $\tilde{y}_t = \log^{10} y(t)$ sowie $k' = 0,4343 \cdot P(0) \cdot k$, so erhalten wir in der Näherung des linearen Bereichs die auch von anderen Autoren (HALPERN) benutzte Formel:

$$\tilde{y}(t) = \log^{10} N(0) - k' \cdot t ,$$

aus der man etwa durch Berücksichtigung zweier Meßwertpaare T_1, y_1 und T_2, y_2 k' berechnen kann gemäß

$$k' = \frac{y_1 - y_2}{T_2 - T_1}$$

Damit haben wir die Berechtigung, die HALPERNsche Formel auch bei der Auswertung unserer Versuche anwenden zu können.

Strahlenbiologie des RES:

Zunächst begannen die Untersucher, mit histologischen Mitteln und Methoden nach einer möglichen, morphologisch faßbaren Strahlenschädigung der reticulo-endothelialen Zellen zu fahnden. TULLIS 1951, BARROW u. TULLIS 1952 und CRONKITE 1948 fanden am RES der Ratte, des Kaninchens und der Maus nach GKB bis zu 1 000 R keine Veränderungen. BLOOM 1948 sah nach LD_{50/30d} bei Meer-schweinchen, Ratten und Kaninchen ebenfalls keine morphologisch faßbaren Zellschäden.

Die Funktionsprüfungen fielen bei der Maus nach 400 R GKB normal aus. Nach 2 500 R (DOBSON) und 800 R (GORDON) war die Phagocytoseaktivität der reticulo-endothelialen Zellen ungestört, und nach 400 R blieb die Blutclearance in den Versuchen Di LUZIOS unverändert. DOBSON u. JONES konnten mit P³² und Y⁹⁰ in kolloider Lösung eine Strahlenbelastung des RES von 2 300 und 16 000 rep. erreichen. Bis zu 2 300 rep zeigten die Zellen normale Phagozytose. Weitere Untersucher, es seien hier nur TŹŹUKI 1926, TAPLIN u. Mitarb. 1953 und GABRIELI u. AUSKAPS 1953 genannt, erhielten nach GKB bei den Funktionsuntersuchungen normale Werte.

Intravenös injizierte Bakterien wurden auch nach Bestrahlung mit gleicher Schnelligkeit vom RES des Tieres aufgenommen, doch fanden HA BOND u. MILLER den intrazellulären Abbau gehemmt; sie wurden hierin von HELLER 1955, GORDON 1955 und von CHROM bestätigt.

Großes Interesse verdient eine Arbeit von RILEY, COLEMAN u. HOKAMA 1961. Nach GKB mit Dosen bis 750 R fanden die Autoren einen erhöhten Titer an C-Reaktivem Protein. Hypothetisch nahmen sie das RES als Bildungsstätte dieses Proteins an. Da nach Ausschaltung des Systems mittels hoher Thorotrastgaben der Titeranstieg ausblieb, ließ sich die Annahme auch experimentell stützen. Die Vermehrung des C-reaktiven Proteins auch nach hoher Strahlendosis spricht danach für eine Strahlenresistenz des RES.

Für die Praxis scheint der Titeranstieg für dieses Protein von einiger Bedeutung zu sein. In Tierversuchen konnte gezeigt werden, daß Stärke des Strahleninsultes und Höhe des Titers einander proportional sind. Bleibt der Anstieg 24^h nach Exposition aus, so mag eine günstige Prognose des Strahleninsultes zulässig sein.

Schon aus älteren Untersuchungen sind Befunde bekannt, die im Gegensatz zu den bisher erwähnten für eine vergleichsweise hohe Strahlensensibilität der reticulo-endothelialen Zellen sprechen. 1929 beobachtete PIEPENBORN im Mikroskop strahlenbedingte Schäden am Milzreticulum. Nach $1/2$, $2/3$ und 1 ED fielen CALLERIO (1929) bemerkenswerte Veränderungen am RES in Leber und Milz auf. Mit zunehmender Dosis wurden diese besonders ausgeprägt. Außerdem fand er eine lebhaftere Proliferation des Gewebes.

Die Milz wies p.rad. eine deutliche und einige Wochen anhaltende Zellverminderung auf, die auch die Reticulumzellen betraf (HAYER 1932). POHLE u. BUNTING bemerkten schon nach 100 R mikroskopisch nachweisbare Schädigungen, die innerhalb 14 Tagen wieder repariert waren. Nach 2 500 - 3 000 R hatten diese wesentlich größere Ausmaße, waren jedoch in wenigen Tagen kompensiert.

WINDHOLZ 1937 unterschied zwischen direkter und indirekter Strahlenwirkung auf die Zellen des RES. Die direkte ließ sich am Absterben der Zellen beobachten. Aufquellen der Zellen und Proliferation, die schon 4 Stunden post radiationem auftraten, werden als indirekte Wirkung angesehen. Nach GKB mit 600 R traten degenerative Kernveränderungen in den Reticulumzellen der Milz des Meerschweinchens schon einen Tag später auf, während die gleichen Veränderungen in den Kupferschen Sternzellen sich erst am 3. Tag manifestierten. Über degenerative Zellschäden schon nach 25 und 500 R berichten PAPE und JELLINEK 1948. Di LUZIO u. ZILVERSMIT beobachteten in einem kleinen Teil ihrer Versuche ebenfalls eine deutliche Strahlensensibilität des RES. Mit verfeinerten Methoden wies SCHERER 1956 schon nach 100r morphologisch erkennbare Schäden an den Reticulumzellen der Milz ganzkörperbestrahlter Tiere nach. Es traten Kern- und Nukleolenvergrößerung sowie cytoplasmatische Schwellung und Vakuolenbildung auf. Damit deutet sich eine erheblich größere Strahlensensibilität des RES an, als sie bisher angenommen wurde.

COTTIER 1961 fand die eben erwähnten Veränderungen der Reticulumzellen nur in Gebieten mit massivem Untergang des lymphatischen und hämopoietischen Parenchyms. Gleichartige morphologische Umwandlungen traten auch bei unbestrahlten Tieren mit schwerem Zelluntergang innerhalb

des reticulären Grundgerüsts auf. Es ist also möglich, daß der beschriebene Gestaltwandel der Reticulumzellen eher einer Reaktion auf die in der Umgebung stattfindende Nekrobiose sensibler Elemente als einer direkten Bestrahlungsfolge entspricht. Der Autor fand keinen verstärkten Untergang von Reticulumzellen, dagegen einen Abfall der Monocytenzahl im Blut.

PAPE u. PIRINGER-KUTCHENKA 1956 bemerkten regionärer Bestrahlung mit 100 R einen vehementen Zellzerfall, dem nach 30 Stunden ebensolch heftige Proliferation folgte. CUTLER u. GABRIELI sahen Zellschäden schon nach der Applikation geringer Mengen radioaktiven Kolloids.

Die bisher beschriebenen, morphologisch manifesten Strahlenschäden sollen nach der Meinung vieler Autoren Spätschäden sein. Die Methoden, sie darzustellen seien nicht geeignet, subtile frühe Veränderungen, die die Funktion dieser Zellen betreffen können, zu erfassen. Dazu seien Funktionsuntersuchungen besser geeignet.

Wir haben weiter oben schon erwähnt, daß auch die Ergebnisse dieser Untersuchungen nicht eindeutig waren. Einige der Arbeiten bezeugen die Resistenz der Funktion gegenüber der Strahleneinwirkung, doch die Mehrzahl beweist eine erhebliche Sensibilität.

Die Bestrahlung mit 100 % HED verminderte die Speicherung von Trypanblau (MISCHTSCHENKO 1929). SCHÖNIG 1929 kam zu dem gleichen Ergebnis bei Verwendung von Kongorot. Am Menschen stellte er eine Entsprechung von Stärke des Röntgenkaters und Verminderung der Farbstoffaufnahme im RES fest. Nach nur 42R wird beim Kaninchen die Aufnahmefähigkeit für Carmin erheblich gesenkt (KOHA 1933). Am gleichen Tier soll nach ZACHERL 1929 eine schwache Bestrahlung eine vermehrte Speicherung von Eisenoxysaccharat bewirken, hohe Strahlendosis jedoch eine verminderte.

Die Aufnahme von Kolloiden in das RES wird durch Bestrahlung beeinträchtigt (BECKER, GABRIELI 1953, JONES, WROBBEL u. LYONS). Nach 100 R beobachteten GABRIELI u. AJSKAPS eine Reduktion der Phagocytoseaktivität bei Ratten. Während 14 Tagen nach Strahlenexposition war die Blutclearance injizierten Prodigiosins herabgesetzt;

auch die Aufnahme radioaktiven Phosphors war herabgesetzt. Nach dieser Zeit erreichte die Phagocytose jedoch wieder den normalen Stand (TAPLIN u. Mitarb.). Bei bestrahlten Ratten und Mäusen ließ sich die durch Cortison induzierte Hemmung der Phagocytose im Gegensatz zu unbehandelten Kontrollen durch Cholingaben nicht normalisieren (HELLER 1955).

Weiterhin bemühte man sich, differenzierte Aussagen über die Strahlenwirkung auf die einzelnen Phasen der Phagocytose zu machen. Verließ die Aufnahme von Bakterien in die Phagocyten ungestört (nach SCHWIENHOEST 1928 ist diese sogar vermehrt!), so fand man die intrazelluläre Verdauung nach einer Radiatio mit 800R erheblich gestört (GORDON, COOPER u. MILLER, HELLER 1955). Gleiches gilt nach KOKOGLY auch für den Abbau phagocytierter Hühnererythrocyten. WISH u. Mitarb. unterschieden sogar die Strahlenwirkung auf die Phagocytose insgesamt und auf die "phagocytäre Affinität". War erstere bei bestrahlten Tieren gehemmt, so blieb letztere normal bis leicht erhöht. Mit der phagocytären Affinität ist das Bestreben von Fremdkörpern zur Kontaktaufnahme mit den Phagocyten gemeint, also letzten Endes der Adsorptionsvorgang. Gegen die Funktionsuntersuchungen wurde ein wichtiger Einwand erhoben. SCHÖNIG wies schon 1929 darauf hin, daß in bestrahlten Geweben zahlreiche Zelltrümmer zu finden seien, die vom RES beseitigt werden müssen. Er deutet damit die Möglichkeit einer Blockierung der Aufnahmefähigkeit der Phagocyten für weitere Fremdkörper an. So könnten die von oben zitierten Autoren beschriebenen Störungen in der Fähigkeit zu weiterer Phagocytose nach Bestrahlung zumindest teilweise auf diesem Umstand beruhen. Wir haben früher darzustellen versucht, daß eine Blockade des RES nur temporärer Natur sein kann, da schon nach kurzer Zeit die Funktionseinbuße des Systems infolge hoher Regenerationsleistung kompensiert wird. Wenn also nach Ablauf von etwa 48 - 72 Stunden Funktionsproben negativ ausfallen, so muß eine massive Schädigung der Zellen die Ursache sein. Hat der Funktionsausfall über 8 Tage Bestand, dann ist eine verminderte Regenerations-

leistung dafür verantwortlich zu machen, die Folge eines Strahleninsultes sein kann. In den ersten Stunden nach Bestrahlung kann nur mit großen Einschränkungen eine Beurteilung der Funktion des RES versucht werden. Konkurrieren doch Zelltrümmer und Testsubstanz miteinander, die beide speicherbare Stoffe darstellen. Zumindest wird dabei der eine von beiden nicht in dem normalen Ausmaß aufgenommen werden können, wenn nicht die Speicherrate für beide proportional herabgesetzt wird, wie es in vielen Experimenten die BENACENIAF-BIOZZI-WALPENTI-Gruppe gezeigt hat. Sie sprechen von der Interferenz zweier oder mehrerer Phagocytosevorgänge.

Wir begnügen uns hier mit einer kurzen Darstellung des Problems, da wir es im Anschluß des experimentellen Kapitels eingehend diskutieren müssen.

Im Zusammenhang mit der Erörterung der Strahlensensibilität der phagocytierenden Reticulumzellen wollen wir noch in Kürze auf den Einfluß der Bestrahlung auf die antikörperbildenden Reticulumzellen eingehen. Man nimmt heute an, daß eine synergistische Verknüpfung der Funktionen beider Zellarten besteht, derart, daß die phagocytierenden Reticulumzellen korpuskuläre Antigene aufnehmen und zu wirksamen Molekülen abbauen, die in den Plasmazellulären Reticulumzellen die Antikörperbildung induzieren können (ENRICH; STENDER). Ein Strahleninsult, der die Phagocyten trafe, könnte sich also indirekt auch auf die Antikörperproduktion auswirken. Hatten HAIKE 1932, RANDERATH u. SCHLESINGER 1932 und HELD 1933 auch nach Aufhören der Phagocytose keine Beeinträchtigung der Antikörperbildung feststellen können, so lassen diese Befunde dennoch nicht auf eine Strahlenresistenz schließen. In späteren Arbeiten wurde darauf hingewiesen, daß es auf den Zeitpunkt der Bestrahlung ankommt. Liegt dieser kurz vor oder kurz nach Antigengabe, so tritt eine dosisabhängige Depression der Antikörperbildung ein (BARROW u. TULLIS; DIXON; STENDER) größere Abstände zwischen Ratiation und Antigengabe bleiben ohne nachweisbare Wirkung (CRADDOCK; DIXON; STENDER). Die Erklärung ist in der strahlenbedingten Hemmung der Präparation der korpuskulären Antigene zu wirksamen Molekülen durch die phagocytierenden Reticulumzellen und

der daraus folgenden Verminderung der Induktion der Antikörperproduktion in den plasmazellulären Reticulumzellen zu suchen, daneben jedoch auch in einer direkten Schädigung der Plasmazellen.

Experimenteller Teil:

=====

Inhalationsversuche mit radioaktivem Eisenstaub:

Zielsetzung der Versuche:

Die folgenden Versuche dienten der Orientierung über die Rolle der Lunge als Dekontaminationsorgan nach Inhalation staubförmiger Verunreinigungen der Luft. Wir beschränken uns auf einmalige Inhalation radioaktiven Eisenstaubes, da unseren Untersuchungen nur die Absicht zugrunde lag, den Modus zu erkennen, wie und mit welchen Mitteln die Lunge einer solchen Invasion begegnet.

Somit bildet diese Versuchsanordnung ein Pendant zu der unserer später beschriebenen Phagocytoseexperimente. Soll hier zunächst geklärt werden, ob sich dem Reticulo-Endothelialen System angehörige Zellen an der Vernichtung und dem Abtransport inhalierter Fremdkörper beteiligen, so wird später darüber zu berichten sein, wie diese phagocytierenden Zellen sich gegenüber einer durch kolloidale Partikel bedingten Verunreinigung des Blutes verhalten.

Methodik:

Im Kernreaktor wurde Eisenstaub (Partikelgröße 1 - 10 μ) durch Neutronenbeschuß aktiviert. Eisenisotope mit unterschiedlicher Strahlungsenergie und Halbwertszeit waren die Folge dieser Aktivierung. Da uns das Isotopengemisch 55/59 Fe besonders interessierte, mußte die Meßmethodik für dieses adaptiert werden. Unter Zuhilfenahme verschiedener Absorber erfolgte die Aktivitätsbestimmung, die meßtechnische Auftrennung des Isotopengemisches mittels eines 256-Kanal-Impulshöhen-Analysators.

Aus meßtechnischen Voruntersuchungen ging hervor, daß eine Aktivitätsbestimmung des 55/59 Fe-Isotopengemisches am günstigsten war im Bohrlochs-zintillationszähler. Die Versuche wurden an Kaninchen gleicher Rasse, gleichen Alters, Geschlechts und Gewichts durchgeführt. Die In-

halationsmethode wurde an 30 Tieren getestet. Als vor-
teilhafteste Applikationsart erschien uns dabei die per-
cutane Injektion von 5 - 10 mg in 0,5 ml physiologischer
Kochsalzlösung aufgenommenen Eisenstaubes in den unteren
Teil der Trachea. Die Tiere zeigten keine den Verlauf
der Versuche ungünstig beeinflussenden Reaktionen. Die
Atmung besorgte automatisch eine gleichmäßige Verteilung
bis in die Alveolen hinein, die bei Verwendung einer an-
deren Applikationsweise wegen der großen Verklumpungs-
neigung des mehlartigen Eisenstaubes sonst nicht zu er-
reichen war.

Autoradiografie:

Wir benutzten die von GRAUL und HUNDESHAGEN modifizierte
Methode nach PELC. Es soll hier nur kurz auf das Prinzip
der Methode eingegangen werden, eine ausführliche Be-
schreibung findet man in den Originalarbeiten.

Der auf einem Objektträger leicht angetrocknete Gefrier-
schnitt wird im Wasserbad mit einer Stripping-Film-
Schicht überzogen. Der so präparierte Objektträger wird
in der Dunkelkammer im Eisenschrank verwahrt. Die Expo-
sitionszeit richtet sich nach der Höhe der verwendeten
Aktivität, sie beträgt bei diesen Untersuchungen 4 und
8 Wochen. Danach wird die Filmschicht mit einem Spezial-
entwickler behandelt, fixiert und anschließend gut ge-
wässert. Hierauf folgt die Färbung des Schnittes in üb-
licher Weise mit Hämatoxylin-Eosin. Damit ist es möglich,
die Filmschwärzungen den histologisch sichtbar gemachten
Gewebestrukturen zuzuordnen.

Beschreibung der Versuche:

Kollektive von jeweils 5 Tieren wurden in bestimmten
Zeitabständen (1,6 und 14 Tagen) nach der Inhalation des
Eisenstaubes getötet. Lunge, Leber, Milz und Nieren wur-
den nach Aufarbeitung in 1 g-Portionen in toto im Bohr-
lochsziintillationszähler auf ihren Gehalt an Aktivität
hin untersucht.

Wir hielten die Tiere bis zur Tötung in Stoffwechselkä-
figen und sammelten Kot und Urin in 24 Stunden-Portionen,
um die Ausscheidung von Aktivität zu messen. Von den un-
tersuchten Organen fertigten wir je 5 autoradiografische
Präparate an.

Ergebnisse:

24 Stunden nach Inhalation von 5 - 10 mg aktivierten Eisenstaubes in die untere Trachea waren noch 65 - 85 % der applizierten Gesamtaktivität in der Lunge nachzuweisen. Die Aktivität in der Lunge sank bis zum 6. Tag p.i. auf annähernd 35 % der eingegebenen ab um vom 10.-14. Tag konstant auf etwa 10 - 20 % zu bleiben (s. Abb. 1). Im Kot wurden 24 Stunden nach der Inhalation 10 - 30 % der inhalierten Aktivität ausgeschieden, im Urin 5 - 10 %. Nach 5 Tagen erfolgte keine wesentliche Ausscheidung mehr. Den Verlauf der Ausscheidung zeigt Abb. 2. Die Autoradiografien (Abb. 3a, b und c) lassen erkennen, daß der größte Teil des Eisenstaubes an der Oberfläche der Bronchien und Alveolen haftet und mit dem Flimmerstrom in die Trachea zurückbefördert wird, von hier in den Rachen gelangt, um weiter enteral inkorporiert bzw. ausgeschieden zu werden.

Diskussion der Ergebnisse:

Aus den Versuchen geht hervor, daß im Verlauf von 14 Tagen im Mittel 85 % der inhalierten Aktivität über den Magen-Darm-Trakt wieder ausgeschieden werden. Der Modus der Dekontamination verläuft nach den autoradiografischen Befunden so, daß der größte Teil der Fremdkörper sich im Flimmerepithel verfängt und von diesem in den Pharynx befördert wird. Nachfolgend gelangt der Eisenstaub in den Darm. Eine wesentliche Resorption scheint hier nicht zu erfolgen, wie die geringe Aktivitätsausscheidung im Urin und der anfänglich geringe, später überhaupt fehlende Aktivitätsanteil in der Niere beweisen. Daher ist es einleuchtend, daß in Leber und Milz, in denen normalerweise die Hauptmasse inkorporierter Fremdkörper zu finden ist, keine Aktivität nachgewiesen werden kann, weder qualitativ durch Autoradiografie noch quantitativ durch Messung im Bohrlochszintillationzähler. Unsere Ergebnisse stimmen gut mit den von AURAND, JACOBI u. SCHÄUB erhaltenen überein, die oben schon erwähnt wurden.

Der in der Lunge verbliebene Rest des $^{55}/^{59}\text{Fe}$ -Staubes ist von den zur Fremdkörperaufnahme befähigten Zellen der Lunge aufgenommen worden. Der Nachweis wurde durch die Autoradiografie erbracht, die eine Zuordnung der durch die Strahlung des $^{55}/^{59}\text{Fe}$ -Isotopengemisches her-

vorgerufenen Filmschwärzungen zur Histologie erlaubt.

Es seien hier noch einige Bemerkungen angefügt, die auf die mögliche Übertragung dieser Versuchsanordnung auf die Erforschung bestimmter humanmedizinischer Probleme hinweisen. Insbesondere ist hierbei an Fragen der Arbeitsmedizin gedacht und an mögliche Folgen nuklearer Katastrophen accidenteller oder kriegsrischer Genese. Durch den Ausbau dieser Tierversuche als Dauerinhalationsversuche ließen sich im Rahmen der Zulässigkeit von Analogieschlüssen z. B. die Pathogenese der Eisenstaublunge und die Dekontaminationsvorgänge sowie eventuelle, sie fördernde therapeutische Maßnahmen nach Inhalation von Radionukliden erforschen.

Untersuchungen über die Phagocytose am isolierten Herz-Lungen-Präparat des Kaninchens unter Verwendung von denaturiertem ^{131}J -Albumin:

Zielsetzung der Versuche:

In vielen in vitro-Untersuchungen, als Beispiel seien hier nur die zahlreichen Arbeiten der BENACERRAF-BIOZZI-HALPERN-Gruppe angeführt, wurde die Phagocytose von im Blut gelösten Fremdkörpern durch die Zellen des RES beschrieben. Dabei kam die dominierende Rolle der Leber und Milz sowie des Knochenmarkes immer wieder zum Ausdruck. Die Lunge schien danach in Rahmen dieser Vorgänge bedeutungslos. Nur aus Mitteilungen von BÜCHNER und GRAUL u. HUNDESHAGEN aber glaubte man entnehmen zu können, daß eine Korrektur dieser Vorstellung angebracht erschien. Sie hatten im Rahmen ihrer Untersuchungen feststellen können, daß die Lunge unter bestimmten Bedingungen eine äußerst wichtige Rolle als Ausscheidungsorgan für RES-affine Substanzen spielt.

Aus diesen Gründen haben wir es unternommen, am isolierten Herz-Lungen-Präparat der Frage einmal nachzugehen. Zudem sind bisher nur wenige Phagocytoseexperimente am isolierten Organ gemacht worden. Diese beschränkten sich außerdem auf die Leber (BRAUER u. Mitarb.).

Methodik:

Herstellung einer kolloidalen ^{131}J -Albuminlösung:

Eine 20%ige Humanalbuminlösung wird mit 5 mC nach der Methode von FRANCIS, MULLIGAN u. WORMALL markiert. In einer Ionenaustauschersäule (Amperlit IRA 400) wurde das ungebundene ^{131}J - von der Lösung abgetrennt. Etwa 30 % der eingesetzten Aktivität gingen eine Bindung mit dem Albu-

min ein. Eine Probe der markierten Albuminlösung wurde papierelektrophoretisch aufgetrennt (Methode EGGSTEIN u. HUNDESHAGEN). Die Laufzeit von 1 Stunde bei einer Spannung von 180 V reicht aus, um organisch gebundenes Jod und freie Jodionen aufzutrennen. Der angefärbte Papierstreifen wird in einem mit zwei Zählrohren besetzten Radiochromatographen (Modell Frießbeck und Höpfner) auf seine Aktivität hin untersucht. Die Aktivitätskurve zeichnen wir mit einem Linearschreiber auf. Wir erhielten einen Aktivitätsgipfel immer nur über dem Albumin, nirgends sonst war auf dem Elektrophoresestreifen Aktivität nachzuweisen. Die Kontrolle der Pufferlösung aus der Kammer ergab, daß auch keine freien ^{131}I -Ionen abgewandert waren. Damit ist der Nachweis erbracht, daß die nachweisbare Aktivität des ^{131}I ausschließlich an das Albumin gebunden ist. Wir sind also berechtigt bei Kenntnis der Albuminkonzentration in der Lösung, die gemessene Aktivität auf das Albumin zu beziehen und von dessen spezifischer Aktivität zu sprechen.

Präparation:

Die nunmehr mit ^{131}I markierte Albuminlösung wird neutralisiert und nach BENACERRAF u. Mitarb. 1955, BIOZZI und Mitarb. 1955 und BENACERRAF u. Mitarb. 1957 aufgearbeitet. Zunächst entnehmen wir eine Probe der Lösung, die in einer Cuvette (Schichtdicke 1 cm) bei Zimmertemperatur für die späteren fotometrischen Untersuchungen aufbewahrt wird.

Die markierte Albuminlösung wird im Wasserbad bei 70° C unter fortwährendem Schütteln für die Dauer von 20 Min. erhitzt. In Abständen von 1 Min. wird im Zeiss-Photometer bei einer Wellenlänge von 550 m μ die Extinktion entnommener Proben gegen die Ausgangslösung gemessen. Nach 20 Min. des Erhitzens ist das Albumin denaturiert und liegt in Form einer kolloidalen Suspension vor, deren Extinktion $1,0 \pm 10\%$ beträgt bezogen auf die Ausgangslösung.

Nach Erreichen dieses Wertes wird die Lösung sofort auf eine Temperatur von unter 50° C abgekühlt, dann mit 1 nHCl angesäuert, bis das Albumin beim IP (pH 4,6) ausfällt. Der Vorgang des Ansäuerns erfolgt unter pH-Kon-

trolle mit dem pH-Meter! Anschließend wird zentrifugiert, der Überstand verworfen, das Zentrifugat in physiologischer Kochsalzlösung (pH 4,6!) gewaschen und wiederum zentrifugiert. Nach 3-maligem Zentrifugieren mit nachfolgendem Waschen löst man schließlich das gereinigte ^{131}J -Albumin in physiologischer Kochsalzlösung (pH 7,8). Das Resultat dieser Präparation ist eine Suspension etwa $3\text{ }\mu$ groß mit ^{131}J markierter Albumintpartikel in physiologischer Kochsalzlösung.

Die Größe der Teilchen maßen wir mikroskopisch im Dunkel-feld, die Zahl der Partikel pro mm^3 stellten wir im EEL-Blutkörperchenzählautomaten fest (s. DAMMINGER 1958). Durch Kombination dieses Apparates mit einem 256-Kanal-Impulshöhenanalysators konnten wir exakt reproduzierbare Größenverteilungskurven der Partikel erhalten. Damit konnten wir feststellen, daß bei gleichen Präparationsbedingungen die Teilchengröße verschiedener Lösungen gleich war. Etwa 95 % der Partikel wiesen einen Durchmesser von $3\text{ }\mu$ auf, die restlichen maßen bis zu 2 oder $4\text{ }\mu$. Die Fehlerbreite dieser Methode liegt bei $\pm 3\%$. Wir erhielten ein hinsichtlich der Partikelgröße nahezu homogenes Kolloid, womit wir eine der Bedingungen erfüllen, die bei der Wertung der Speicherversuche als Funktionstest zu stellen sind.

Zum Schluß der Präparation stellten wir die Lösung auf eine Konzentration von 300000 Partikel/ml ein, die im EEL-Blutkörperchenzählautomaten kontrolliert wurde.

Tiermaterial:

Da uns aus der Literatur (HÖFER 1959) der Einfluß von Spezies, Alter, Geschlecht und Körpergewicht der Tiere auf die Ergebnisse der Phagocytoseversuche bekannt war, suchten wir diese Faktoren auszuschalten. Wir nahmen nun Kaninchen einer Rasse, die von einem Züchter geliefert wurden, und männlichen Geschlechts. Die Tiere waren etwa 6 ± 1 Monat alt und wogen $3 \pm 0,5\text{ kg}$.

Gewinnung des Herz-Lungen-Präparates:

Die Tiere wurden mit Pernoxton eingeschláfert. Sodann führten wir die Tracheotomie durch und vertieften die Narkose mit Äther. Nach Eröffnen des Thorax erfolgte die Beatmung manuell unter Überdruck mit einem Sauerstoff-Luftgemisch.

Zunächst wurden die Art. und die V. subclavia bds. ligiert und durchtrennt, dann die Aorta distal der Abgänge der vorher durchtrennten Gefäße freipräpariert.

In die Aorta legten wir einen Katheder, dessen freies Ende dann in die V.Cava caud. eingebunden wurde. Damit war für die Dauer der weiteren Operation der Körperkreislauf ausgeschaltet bis auf den den Kopf versorgenden Teil, der zuletzt durchtrennt wurde. Die Dauer der Operation einschließlich der Narkose betrug maximal 12 Minuten.

Beschreibung der Versuchsordnung:

Das Herz-Lungen-Präparat wird bei erhaltener Herzaktion in ein Gerät eingebaut, das in einer feuchten Kammer bei konstanter Temperatur die Durchströmung mit Tyrode-Lösung unter Druckkontrolle im geschlossenen Kreislauf gestattet. (GRAUL u. HUNDESHAGEN 1961). Der Nährlösung ist jeweils eine bestimmte Menge des erwähnten Kolloids zugesetzt, eine optimale Durchmischung erfolgt durch ein Rührwerk.

Über 1 Stunde wird der Konzentrationsabfall der mit ^{131}J markierten Albuminpartikel in der Lösung direkt und indirekt gemessen. Die direkte Messung erfolgte über eine unten beschriebene Anordnung, die eine Aktivitätsbestimmung in der strömenden Lösung gestattet, die indirekte durch Entnahme von Proben aus der Flüssigkeit und Untersuchung im Bohrlochszintillationszähler.

Nach Beendigung des Versuches wurde aus verschiedenen Lungenabschnitten Gewebe zur histologischen Untersuchung entnommen. Außerdem wurden Autoradiographien angefertigt.

Meßtechnik:

Die Messung von Aktivität in der strömenden Flüssigkeit bereitete zunächst einige Schwierigkeiten. Wir begannen unsere Versuche mit folgendem Meßplatz: Die die Lunge verlassende Lösung wurde durch eine Kapillarmeßkammer geleitet, deren Oberwand aus einer dünnen Kunststofffolie als end-window für einen Methandurchflußzähler gebaut war. Zur Bestimmung des beta-Anteils der Strahlung des ^{131}J brauchten wir jedoch eine relativ hohe Aktivität, so daß wir uns entschlossen, nur den gamma-Anteil auszunutzen. Zu diesem Zweck setzten wir eine Szintillationsmeßsonde auf die Kapillarmeßkammer, mußten jedoch feststellen, daß der gemessene Aktivitätsabfall nicht den Tatsachen entsprach. Die Strömung in der

Kammer erfolgte nur in der Mitte, am Rand blieben noch verhältnismäßig große Aktivitätsmengen liegen und verfälschten die Meßwerte erheblich. Das Problem ließ sich schließlich auf einfache Weise lösen. Auf einem Zylinder aus Pappe, der auf den Kristall des Szintillationszählrohres aufgesetzt wurde, brachten wir in Windungen 15 cm des gleichen Schlauches unter, der auch in der Kreislaufmaschine benutzt wurde. Somit waren die gleichen Strömungsbedingungen gegeben wie im gesamten künstlichen Kreislauf sonst. Die Aktivität eines definierten Volumens der strömenden Flüssigkeit wurde somit einer Szintillationsmeßsonde bestimmt und über ein Ratemeter mittels eines Linearschreibers fortlaufend registriert. Nach Eichung mit einer bekannten Aktivität erhielten wir dann Konzentrationsverlaufskurven (s. Abb. 4), aus deren Verlauf die Speicherbereitschaft des Lungen-RES direkt abzulesen war. Da die spezifische Aktivität eines Partikels bekannt war, ließ sich aus der Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration, aus der Höhe des Aktivitätsabfalles hervorgehend, die absolute Zahl der gespeicherten Partikel berechnen.

Neben dieser direkten Messung wurden in den ersten 10 Min. jede Minute 0,1 ml aus der Durchströmungsflüssigkeit entnommen, für weitere 10 Min. alle 2 Min., danach alle 5 Min. bis zum Ende des Versuches nach einer Stunde. Im Bohrlochszintillationszähler bestimmten wir dann die Aktivität bei jeder Probe. Durch diese annähernd kontinuierliche Messung im Bohrloch ergab sich ebenfalls eine Bestimmung des Konzentrationsverlaufes. Die Methode ist um vieles umständlicher und zeitraubender, jedoch, wie aus Leerversuchen hervorging, genauer als die direkte Messung. Aus diesem Grunde haben wir bei der Auswertung unserer Versuche nur die Ergebnisse der Messungen im Bohrlochszintillationszähler berücksichtigt.

Schema der Auswertung:

Für jeden Versuch erhielten wir eine Verlaufskurve der Konzentration radioaktiven Materials in der Durchströmungsflüssigkeit. Aus der in Abb. 4 gezeigten Kurve geht grundsätzlich der Verlauf aller gewonnenen hervor, der

Unterschied besteht in Höhe und vor allem Geschwindigkeit des Abfalles in den einzelnen Versuchsreihen. Man sieht, daß der anfangs rapide Abfall im Verlauf der nächsten Minuten geringer wird, um dann überhaupt auszubleiben. Bis zum Ende des Versuchs ändert sich die Konzentration scheinbar nicht mehr, doch lassen genauere Analysen erkennen, daß eine äußerst minimale Änderung doch auch in dieser Zeit noch erfolgt, sie kann jedoch vernachlässigt werden. Die mathematische Betrachtung ergibt nämlich, daß erst nach unendlich langer Zeit bei diesem kaum meßbaren Abfall eine wesentliche Änderung der Konzentration eintreten würde, so daß sich daraus praktisch keine Konsequenzen ergeben. Wichtig ist der Zeitpunkt, an dem diese "End"konzentration erreicht ist.

Wir bestimmten die Konzentration der Partikel in der Durchströmungsflüssigkeit durch Division der Imp./ml/Min. gemessenen Aktivität durch die in Imp./Min. gemessene spezifische Aktivität eines ^{131}J -Albuminteilchens. Da die Menge der Flüssigkeit im Kreislauf bekannt war, ließen sich leicht die absoluten Zahlen errechnen, sie stimmten gut überein mit den tatsächlich eingesetzten. Die Bestimmung der Partikelkonzentration in der Lösung wäre fehlerhaft, wollte man nicht das mit dem Präparat eingebrachte Blutvolumen berücksichtigen. Dieses, in einer gesonderten Versuchsreihe bestimmt, wurde zu den bekannten Volumen an Durchströmungsflüssigkeit in der Apparatur addiert, so daß der Verdünnungseffekt korrigiert werden konnte. Die Werte wurden dann in die von HALPERN übernommene Formel eingesetzt, mit deren Hilfe die Berechnung des Phagocytoseindex K durchgeführt werden konnte. Diese Formel, es sei hier noch einmal erwähnt, gilt nur bis zu jenem Zeitpunkt, an dem die Abfallkurve in eine Gerade überzugehen beginnt. Im einschlägigen Kapitel haben wir den Nachweis für die Anwendbarkeit der Formel

$$K = \frac{\log C_1 - \log C_2}{T_2 - T_1}$$

zur Berechnung der Funktionsbereitschaft des RES auch auf unsere Versuchsanordnung bereits geführt.

Für jeden Versuch wurden danach der Phagocytoseindex bestimmt. Jede in der Arbeit angegebene Zahl entspricht dem Mittelwert der an einem Kollektiv von 5 Tieren gewonnenen Ergebnisse. Die größte beobachtete Schwankungsbreite innerhalb eines Kollektivs betrug $\pm 5,4 \%$.

Versuchsgruppen

=====

Versuche zur Ermittlung des Blutvolumens im Herz-Lungen-Präparat:

Die Literaturangaben zur Größe des Blutvolumens im kleinen Kreislauf unterscheiden sich erheblich voneinander. DRINKER, CHURCHILL und FERRY geben das Lungenblutvolumen am Ende der Inspiration mit 8-9%, am Ende der Expiration mit 5-6% des Gesamtblutvolumens an. PLUMIER fand 10% des Gesamtblutvolumens in der Lunge. Der Blutgehalt des Herz-Lungen-Präparates vom Kaninchen beträgt nach KUNO 9-20% der gesamten Blutmenge.

Zu dieser erheblichen Schwankungsbreite der einzelnen Angaben kam noch die Problematik der benutzten Bestimmungsmethoden, so daß wir uns gezwungen sahen, in einer eigenen Versuchsreihe das im Herz-Lungen-Präparat verbliebene Blutvolumen zu bestimmen. Im Rahmen unserer Phagocytoseversuche war diese Bestimmung nicht möglich, da sich mit Versuchsbeginn Dilution und Phagocytose überlagerten, in dem beide Vorgänge einen Konzentrationsabfall in unserer Versuchsanordnung bewirkten. Daher versuchten wir, die Phagocytose durch Abkühlen des Präparates zu unterdrücken, verfuhrten jedoch im übrigen in genau der gleichen Weise wie bei den Phagocytoseversuchen. Wir bemerkten nur in den ersten 5 Min. einen geringen Konzentrationsabfall in der Durchströmungsflüssigkeit. Da keine Speicherung eingetreten war, konnte der Aktivitätsabfall nur durch Verdünnung der Durchströmungsflüssigkeit um das eingebrachte Blutvolumen bedingt sein.

Aus der Änderung der Konzentration aktiver Partikel im künstlichen Kreislauf konnte die Menge des mit dem Präparat eingebrachten Blutvolumens mit großer Genauigkeit bestimmt werden. Wir ermittelten an 10 Tieren das Durchschnittsvolumen im Herz-Lungen-Präparat mit 5,2 ml im Mittel mit einer Schwankungsbreite von 4,1 - 6,2 ml.

Versuche zur Bestimmung der "kritischen Dosis" und Vergleich der Phagocytosefunktion bei unterschiedlichem Angebot speicherbarer Substanz.

Aus den Arbeiten der BENACERRAF-BIOZZI-HALPERN-Gruppe war bekannt, daß die beobachteten Phagocytosegesetze nur oberhalb einer bestimmten Kolloiddosis gelten. Es galt also jene Dosis zu ermitteln, die für verschiedene Kolloide unterschiedlich ist, bei der gerade Speicherung mit der beobachteten Gesetzmäßigkeit eintrat. Diese kritische Dosis ist dann erreicht, wenn das Produkt aus Phagocytoseindex und Kolloiddosis konstant ist.

Wir untersuchten an 4 Tierkollektiven von jeweils 5 Tieren das Verhalten der speicherfähigen Zellen im Herz-Lungen-Präparat nach 4 verschiedenen Kolloiddosen. Der ersten Gruppe wurden 100 000 Partikel angeboten, die der Nährlösung in der Strömungsapparatur zugesetzt waren. Die weiteren Dosen waren 300 000, 500 000 und 1 000 000 Partikel.

Ergebnisse:

Bei der niedrigsten Dosis erzielten wir einen schnellen Konzentrationsabfall. Nach 12 Min. war die Aufnahme von Albuminpartikeln beendet. Danach ist die Speicherbereitschaft sehr hoch anzusetzen, im Widerspruch dazu steht jedoch die geringe Zahl tatsächlich aufgenommener Partikel. Dosiserhöhung bis zu 500 000 Partikeln brachte einen proportionalen Anstieg der Speicherwerte in nur gering verlängertem Speichervorgang bei ebenfalls gering verminderten Phagocytoseindizes. Extrem verlängert wurde der Speichervorgang bei dem größten Angebot. Der Phagocytoseindex sank auf den kleinsten beobachteten Wert ab, die Zahl der aufgenommenen Partikel lag nicht wesentlich über der bei der nächst kleineren Dosis (500 000) beobachteten. Aus Tabelle 1 können die Ergebnisse der einzelnen Versuchsgruppen entnommen werden.

<u>Tab. 1</u>	Dosis	Menge der gesp. Partikel	Phagocytoseindex (K)	KxD
	100 000	37640	0,021	2100
	300 000	121351	0,016	4800
	500 000	184450	0,011	5500
	1 000 000	164600	0,005	5000

Diskussion der Ergebnisse:

Wir haben in Abb. 5 in halblogarithmischer Darstellung die Abnahme der Partikelzahl gegen die Zeit aufgetragen. Die einzelne Kurve wurde aus den Mittelwerten der bei einer Gruppe von 5 Tieren gewonnenen Ergebnisse gezeichnet. Am Ende ist der Phagocytoseindex notiert. Die ersten 3 Kurven scheinen kaum einen Unterschied hinsichtlich Steilheit des Abfalles und dessen Dauer zu bieten. Bemerkenswert flacher verläuft die bei der höchsten Dosis gewonnene Kurve, was auf einen stark verlängerten Speicherprozeß hindeutet. In Einklang damit ist auch der hier beobachtete niedrige Index zu bringen. Die Zahl der gespeicherten Partikel ist am größten bei dem mittleren Angebot von 500 000, selbst bei Verdoppelung der Dosis läßt sich die Speicherung nicht weitertreiben. Es ist anzunehmen, daß damit die zur Verfügung stehende Speicherkapazität erschöpft ist.

So erscheint es zunächst unverständlich, daß bei einer Dosis von nur 100 000 Partikeln nicht alle aufgenommen werden, da das Angebot doch unter der Speicherkapazität liegt, also genügend Zellen zur Aufnahme von Albuminteilchen zur Verfügung stehen. Wir können diesen Widerspruch nur damit erklären, daß infolge der nur geringen Zahl von Partikeln die Wahrscheinlichkeit des Kontaktes äußerst gering und rein zufällig wird, die zu fordernde Gesetzmäßigkeit des Phagocytosevorganges also nicht mehr besteht. Wir können dies auch daraus entnehmen, daß das Produkt aus K und D, das bei den anderen Versuchsreihen in weitgehender Annäherung konstant ist, nicht mit jenen übereinstimmt.

Wir sehen in unseren Versuchen die Dosis von 300 000 Albuminpartikeln als optimal an, da damit nicht die Gefahr der Erschöpfung der Speicherkapazität besteht, also keine temporäre Absättigung des RES erfolgt, wie bei den höheren Dosen. Diese Dosis liegt oberhalb der kritischen, und der Phagocytoseindex ist relativ groß. Die aus den Versuchen mit eben genannter Dosis gewonnenen Ergebnisse stellen die Normwerte dar. Zu ihrer statistischen Sicherung führten wir noch an 10 weiteren Präparaten unter gleichen Bedingungen Versuche durch, so daß der Normwert von dem Mittelwert von insgesamt 15 Einzelergebnissen gebildet wird (Schwankungsbreite $\pm 5,4\%$)

Verhalten der Speicherfähigkeit reticulo-endothelialer Zellen im Herz-Lungen-Präparat nach Ganzkörperbestrahlung mit verschiedenen Dosen.

Das Ziel dieser Versuche war, einen Beitrag zur Klärung des Verhaltens des RES nach Strahleninsult zu liefern. Im Kapitel Strahlenbiologie haben wir einen Einblick in die Problematik dieses Gebietes zu geben versucht. Danach scheint die bisher geltende Meinung, die eine Strahlenresistenz des RES zum Inhalt hat, heute einer Korrektur zu bedürfen. Es mehren sich die Stimmen, die eine Empfindlichkeit des Systems annehmen, gleichzeitig aber auch dessen regenerationsfähige Fähigkeit betonen. Untersuchungsgegenstand in unseren Experimenten ist der Anteil des RES in der Lunge, der Kontakt mit dem Blutstrom hat. Als Indiz für die Intaktheit und Funktionsbereitschaft der phagozytierenden Reticulumzellen diente uns die Speicherfähigkeit für kolloidale, mit ^{131}J markierte Albuminpartikel. Wir führten diese Funktionstests am isolierten Herz-Lungen-Präparat des Kaninchens unter Konstanzhaltung aller Faktoren durch, die bekanntermaßen den Ausfall von Speicherversuchen zu beeinflussen vermögen (Alter, Rasse, Geschlecht und Körpergewicht der Versuchstiere, Größe und Dosis der Kolloidpartikel, Konstanz von Temperatur und Durchströmungsdruck, erreicht durch Erhaltung der normalen Herzaktion über die Dauer des einzelnen Versuchs).

Wir haben uns darauf beschränkt, die Wirkung von Röntgenstrahlen in hoher und niedriger Dosierung zu untersuchen, da es uns nicht auf die Durchuntersuchung eines möglichst kontinuierlichen Dosispektrums ankam, sondern auf die Frage, wie das RES einer Bestrahlung mit niedriger Dosis (100R) begegnet, und welche Reaktion es nach vergleichsweise hohen Dosen zeigt (600R). Die Speicherfunktion wurde in bestimmten zeitlichen Abständen nach Bestrahlung bestimmt.

Das Herz-Lungen-Präparat werten wir als Modell, weil einmal nur wenige Untersuchungen ähnlicher Fragestellung am isolierten Organ gemacht worden sind, zum anderen weil an dem relativ kleinen Anteil des RES in der Lunge die Verhältnisse leichter überschaubar sind.

Versuche nach Ganzkörperbestrahlung mit 600R.

Es wurden wiederum Kollektive von 5 Tieren unter gleichen Bedingungen behandelt. Die Tiere erhielten mit einem der üblichen Therapiegeräte eine Ganzkörperbestrahlung mit 600R. Die Bestrahlungsbedingungen waren: 180 kV 15 mA, 0,5 mm Cu HWS, 1 m FHA.

Zu bestimmten Zeitpunkten nach Bestrahlung (30 min., 1, 4, 14, 24 und 48 Stunden sowie 4, 8, 14 und 21 Tage) wurde das Herz-Lungen-Präparat für eine Stunde durchgeströmt unter Zusatz der optimalen Kolloiddosis. Mittels der oben beschriebenen direkten und indirekten Meßanordnung bestimmten wir den Konzentrationsabfall des Kolloides in der Durchströmungsflüssigkeit und damit die Kolloidaufnahme der Speicherzellen in der Lunge.

Ergebnisse:

In Tab. 2 sind die aus den experimentellen Daten errechneten Werte zusammengestellt. Schon nach 30 min.p.rad. nahmen die Speicherzellen nur noch 88 380 Partikel auf das entspricht 72,8 % der Norm. Die Speicherung fällt weiter steil ab bis zu einem Minimum 24 Stunden p.rad.. Langsam erfolgt die Rückkehr der Funktion; in 21 Tagen erreicht sie annähernd normales Ausmaß (s.Abb.6).

Parallel dem Rückgang der Speicherung läuft der Abfall des Phagocytoseindex (s.Abb.7). Die Ausnahme bildet der mit 0,019 gegenüber der Norm (0,016) erhöhte Phagocytoseindex 30 min. nach Bestrahlung.

Tabelle 2:

Ergebnisse der Funktionsprüfungen nach GKB mit 600R.

Zeit nach Bestrahlung	Zahl der gesp. Partikel	Speicherung in % der angeb. Partikel	K	Speicher. in % der normalen
30 Min.	88 380	29,56	0,019	72,8
1 Std.	58 230	19,41	0,007	47,9
4 Std.	39 840	13,28	0,005	32,8
14 Std.	8 520	2,84	0,0005	9,4
4 Tage	15 000	5,00	0,0011	12,3
8 Tage	29 946	12,57	0,0025	31,0
21 Tage	106 176	35,40	0,014	87,4

Normalwerte	121 351	40,50	0,016	100,0
-------------	---------	-------	-------	-------

Versuche nach Ganzkörperbestrahlung mit 100R.

Gegenüber den oben beschriebenen Versuchsgruppen wurde nur die Strahlendosis geändert.

Ergebnisse:

Die Aufnahmebereitschaft der Speicherzellen in der Lunge erscheint 30 min. nach der Bestrahlung kaum beeinflusst. Erst 24 Stunden p.rad. ist eine geringe Depression erkennbar. Schon 1 Tag später hat sich das Bild völlig gewandelt: Die Funktionsbereitschaft ist auf übernormale Werte angestiegen, wie aus dem Wert von 0,031 für K hervorgeht. 8 Tage nach Bestrahlung finden wir wieder annähernd normale Verhältnisse vor.

In der Tabelle 3 sind die aus diesen Versuchen gewonnenen Daten zusammengestellt. Die Abbildungen 6 und 7 zeigen den Verlauf der Speicherfunktion und des Phagocytoseindex in der beobachteten Zeit nach dieser Strahlendosis.

Tabelle 3:

Ergebnisse der Funktionsprüfungen nach GFB mit 100R.

Zeit nach Bestrah- lung	Zahl der gesp.Par- tikel	Speicherung in % der an- geb. Partikel	K	Speicher. in % der normalen
4 Std.	118 800	39,60	0,0153	97,8
24 Std.	104 610	34,87	0,015	86,1
48 Std.	148 830	49,61	0,031	122,5
8 Tage	127 560	42,52	0,02	105,0
Normalwerte	121 351	40,50	0,016	100,0

Diskussion der Funktionsprüfungen nach Ganzkörperbestrahlung.

Wir haben im einschlägigen Kapitel Material über die Strahlenbiologie des RES zusammengestellt. Wir wiederholen kurz die wichtigsten aus der Literatur bekannten Ergebnisse in Zusammenhang mit der Diskussion unserer Ergebnisse.

Nach Röntgenbestrahlung mit Dosen von 400 bis zu 2 500R und nach Gaben von radioaktivem Material, das am Erfolgsort eine Dosis bis zu 2 500 rep lieferte, konnten histologisch keine wesentlichen Schäden am RES beobachtet werden (TULLIS 1951; BARROW u. TULLIS 1952; CRONKITE 1948).

Schon in älteren Arbeiten wurden jedoch eindeutige Veränderungen beobachtet (PIEPENBORN 1929; CALL ERIC 1929; HAYER 1932). POHLE und BUNTING sahen eine Reparation der Strahlenschäden nach 100R innerhalb von 14 Tagen; eine höhere Dosis (2 500 - 3 000R) verstärkte den Strahlenschaden des RES. In neuerer Zeit hat SCHERER degenerative Kernveränderungen in den Reticulumzellen beschrieben. Gegen diese Deutung brachte COTTIER ein wichtiges Gegenargument vor: Er fand dieselben Veränderungen auch bei unbestrahlten Tieren als Reaktion auf Zelluntergänge im hämopoietischen Gewebe, bezweifelt damit ihren radiogenen Ursprung.

Die Funktionsuntersuchungen des RES hatten ebenfalls keine eindeutigen Ergebnisse. Nach Ganzkörperbestrahlung mit Dosen bis zu 2 500R verlief die Speicherung nach DOBSON normal, während MISCHTSCHENKO (1929), SCHÖNIG (1929) und KOGA 1933) eine verminderte Farbstoffaufnahme schon nach niedrigen Strahlendosen berichten. Auch die Kolloidaufnahme soll nach Bestrahlung beeinträchtigt sein (BECKER; GABRIELI 1953; JONES, WROBEL und LYONS).

Wir müssen zunächst noch einmal auf die bereits früher angeschnittene Frage eingehen, ob die Funktionsprüfungen in der Tat geeignet sind, einen repräsentativen Anhalt für die Unversehrtheit des RES zu geben. Nach LETTERER (1934) sind sie ungeeignet, da sie entscheidende Eingriffe in das System darstellen: Schon nach der ersten Applikation speicherbarer Substanz wird das

IES verändert. Die ihm angehörenden Zellen werden zur Proliferation angeregt, so daß jede weitere Fragestellung in Form des Funktionstestes an ein geändertes Objekt gerichtet ist. Damit wird eine quantitative Aussage über die Funktion unmöglich.

Unser Versuchsprogramm sieht aus diesem Grunde nur eine einmalige Testdosis vor. Wir messen die Speicherungen jeweils an einem Herz-Lungen-Präparat, sichern diesen Wert statistisch an einem Kollektiv von 5 Tieren und beziehen die Mittelwerte der Kollektive aufeinander. Um die Bedingungen möglich konstant zu halten, nahmen wir nur Tiere gleicher Rasse, gleichen Alters, männlichen Geschlechts und gleichen Gewichtes in die Versuche, so daß wir mögliche individuelle Unterschiede in der Speicherung weitgehend ausschalteten. Die Schwankungsbreite innerhalb der Kollektive betrug nie mehr als $\pm 5,4\%$, die Unterschiede zwischen den Kollektiven lagen signifikant höher.

Die sonstigen Versuchsbedingungen wurden so gewählt, daß die Ergebnisse durch die aus der Literatur bekannten störenden Faktoren nicht beeinflusst werden konnten (s.S.15). Das Kolloid, ^{131}J -Albuminpartikel, das nach zahlreichen Untersuchungen der BENACERRAF-BIOZZI-HALPERN-Gruppe von den reticulo-endothelialen Zellen bevorzugt aufgenommen wird, wurde in einer über der kritischen Dosis liegenden Menge appliziert. Wir wählten $3\ \mu$ große Partikel, damit einmal die Tatsache berücksichtigt wurde, daß Phagocyten größere Fremdkörper bevorzugt vor kleineren aufnehmen (s.S.16), zum anderen aber auch die Gefahr einer Verstopfung der Lungenkapillaren vermieden wurde. Wir haben niemals Mikroemboli in unseren Präparaten gesehen.

Wir erfaßten in unseren Untersuchungen jenen Teil der speicherbereiten Zellen in der Lunge, der in der gegebenen Zeit zur Aufnahme von im Blut kreisenden Fremdkörpern in der Lage ist.

Nach GKB mit 600R sank die Speicherfunktion in raschem Abfall innerhalb 24 Stunden auf ein Minimum, um im Verlauf von 3 Wochen langsam wieder annähernd das normale Ausmaß zu erreichen (s.Abb.6). Zu diskutieren ist, ob diese Funktionseinbuße auf der Sättigung der Phagocyten durch Lymphocyten- oder Leukocytentrümmer beruht,

wie SCHÖNIG und COTTIER vermuten. In der Tat können wir diese Absättigung im Anfang nicht von einer radiogenen Depression der Speicherfunktion trennen. Da aber eine Blockade des RES nur für maximal 48 - 72 Stunden Bestand hat (BIOZZI et al. 1957), die Funktion 8 Tage später wieder normal ist (LETTERER), muß die in unseren Versuchen noch am 8. Tag nach Bestrahlung beobachtete Erniedrigung der Speicherung auf 34,0% der normalen andere Ursachen haben. Wir nehmen an, daß ihr eine massive Strahlenschädigung zugrundeliegt. Das bekannt größere Regenerationsvermögen kann diesen schweren Schaden erst innerhalb 3 Wochen kompensieren.

Die Versuchsreihe nach GKB mit 100R ergibt eine nur geringe Funktionseinbuße von 13,9% 24 Stunden p.rad. Diese kann mit einer kurzfristigen Sättigung durch Trümmer zugrundegegangener Zellen erklärt werden. Ein sicherer Anhalt für eine Strahlenschädigung nach 100R, die GABRIELLI und AUSKAPS sowie TAPLIN und Mitarbeiter fanden, ergab sich nicht.

48 Stunden nach Bestrahlung waren sowohl Funktionsbereitschaft als auch Speicherkapazität weit gegenüber der Norm erhöht. 8 Tage p.rad. lagen wieder normale Verhältnisse vor.

Es verbleibt uns noch die Erklärung eines vermeintlichen Widerspruches: Die Behauptung eines Strahlenschadens 30 Minuten nach Bestrahlung mit 600R, obwohl der Phagocytoseindex gegenüber der Norm erhöht war. Im Kapitel "Theorie der Phagocytose" haben wir die physikalisch-chemischen Grundlagen der Phagocytose darzustellen versucht. Dabei wurde als Bedingung eine vermehrte Kontaktmöglichkeit zwischen Phagocyten und speicherbaren Stoffen vorausgesetzt; sie wird erreicht durch Herabsetzung der Oberflächenspannung des Lösungsmittels, die eine Folge der Anreicherung der Oberflächenaktiven speicherbaren Substanzen in der Oberfläche ist. Die Vergrößerung der Berührungsfläche zwischen Phase I (Plasmamembran der Phagocyten) und Phase II (Flüssigkeit mit darin gelösten oberflächenaktiven Speichersstoffen) beruht im Normalfalle also auf einer Änderung der letzteren.

Die kurze Zeit nach der Bestrahlung erhöhte Phagocytoseaffinität muß nach unserer Versuchsanordnung jedoch

durch eine Alteration der Plasmamembran bedingt sein, da die Testsubstanz nicht durch Bestrahlung verändert wurde. Wir nehmen an, daß die Bestrahlung die Plasmamembran der Phagocyten im Sinne einer Herabsetzung der Oberflächenspannung beeinflußt hat. Wir befinden uns dabei in Übereinstimmung mit WISH et.al., die kurze Zeit nach Bestrahlung ebenfalls eine verstärkte Affinität von Fremdkörpern zu Phagocyten beobachteten, während die Speicherkapazität dieser Zellen insgesamt herabgesetzt war. HESS, der keinen Einfluß der Bestrahlung auf die Speicherfähigkeit der Phagocyten beobachtete, diskutiert die Möglichkeit einer Vortäuschung normaler Kapazität durch vermehrte Anlagerung von Partikeln an geschädigte Membranen.

Zusammenfassung

Anhand der Literatur wird über die wesentlichen Funktionen des RES berichtet. Besonderer Augenmerk wird auf die Theorie der Phagocytose gerichtet sowie auf die Methoden, die eine Messung dieser Funktion zulassen.

Orientierende Versuche, in denen Kaninchen intratracheal ein Eisenstaubgemisch ($^{55/59}\text{Fe}$) erhielten, sollten Aufschluß über den Weg geben, den die Dekorporierung eines radioaktiven Aerosols nimmt. Der weitaus größte Teil der Aktivität verfängt sich im Flimmerepithel und gelangt via Pharynx in den Magen-Darm Trakt. Eine nennenswerte Resorption erfolgt dort nicht. Nur 10-20% der Aktivität wird in der Lunge phagocytiert.

An Herz-Lungen Präparaten von Kaninchen wurde in weiteren Versuchen die Phagocytosekapazität bestimmt. Die Konzentrationsänderung einer kolloidalen ^{131}J -Albumin - lösung, die in optimaler Dosis der Nährlösung in der Durchströmungsapparatur zugesetzt war, gab nach direkter und indirekter Messung Aufschluß über den Phagocytoseindex und über die absolute Zahl der aufgenommenen Partikel.

Nach Bestimmung der Normalwerte erfolgte die Untersuchung der Speicherfähigkeit nach Ganzkörperbestrahlung der Tiere mit 100 und 600 R. in Abständen von 30 Minuten bis zu 3 Wochen nach Bestrahlung.

Die Depression der Speicherung nach 600 R erreichte ein Minimum 24 Stunden nach der Bestrahlung. Annähernd normale Werte fanden sich 3 Wochen später.

Eine Stimulierung der Speicherfähigkeit war 24 Stunden nach Ganzkörperbestrahlung mit 100 R nachzuweisen. 8 Tage später erfolgte die Rückkehr zur Norm.

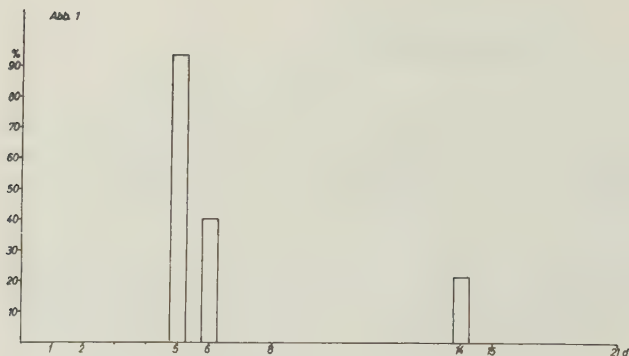


Abb.1: Prozentualer Anteil der gesamt inhalierten $^{55/59}\text{Fe}$ -Aktivität in Kaninchenlungen in Abhängigkeit von der Zeit.

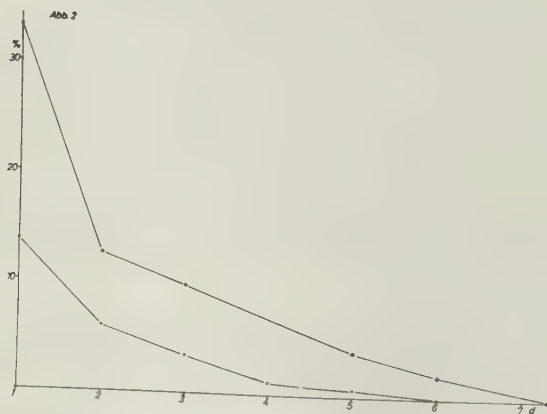


Abb.2: Ausscheidung von $^{55/59}\text{Fe}$ -Aktivität in Kot und Urin eines Kaninchens in % der inhalierten Aktivität. (Obere Kurve: Ausscheidung im Kot, untere Kurve: Ausscheidung im Urin.)

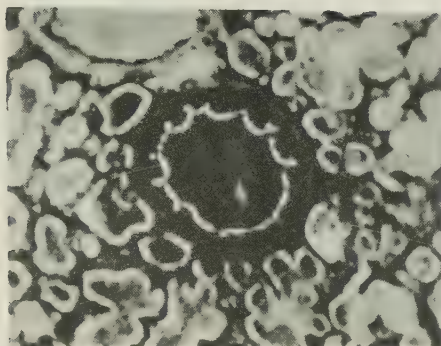


Abb.3a: Autoradiographie. Bronchiolus eines Kaninchens 24^h nach Inkorporierung von 10 mg Eisenstaub. Deutliche Schwärzung über dem Lumen.

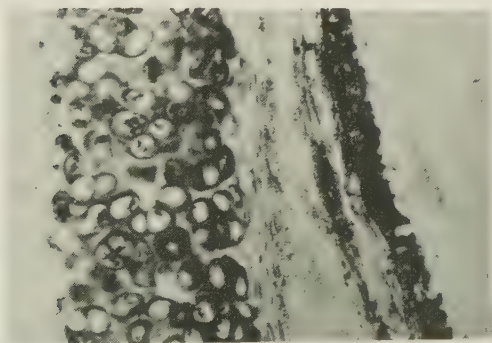


Abb.3b: Autoradiographie: Trachea eines Kaninchens 24^h nach Inkorporierung von 10 mg Eisenstaub. Aktivität ist auf und zwischen dem Flimmer-epithel, im Bindegewebe und über den Knorpelzellen nachzuweisen.

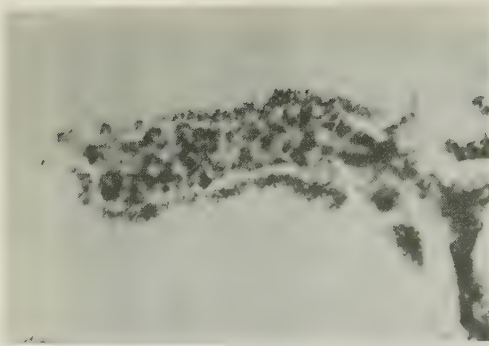


Abb.3c: Autoradiographie. 14 Tage nach Inhalation von Eisenstaub ($^{55/59}\text{Fe}$) wird Aktivität an den Alveolarwänden einer Kaninchenlunge abgelagert und in das Lungengewebe eingebaut.

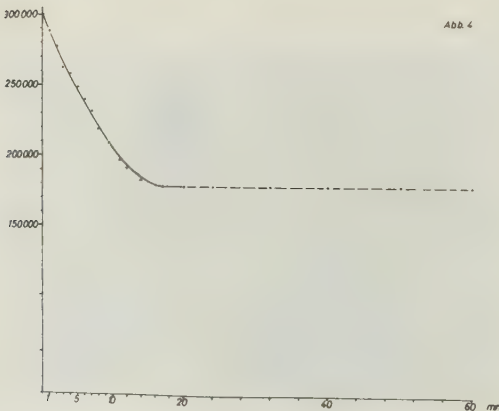


Abb.4: Dargestellt ist die Änderung der Konzentration des Kolloids in der Durchströmungsflüssigkeit im Verlauf der einstündigen Untersuchung bei Normalversuchen.

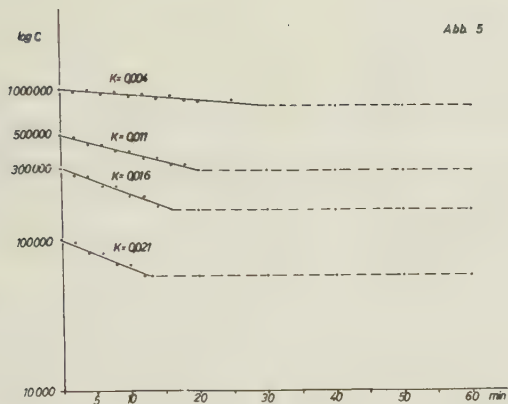


Abb.5: Konzentrationsverlaufskurve mit zugehörigem Phagocytoseindex K bei unterschiedlichem Kolloidangebot. (Halblogar. Darstellung.)

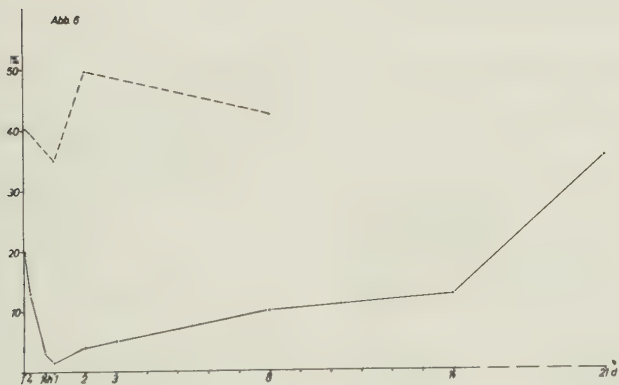


Abb.6: Einfluß von Ganzkörperbestrahlung auf die Aufnahmefähigkeit der Speicherzellen in den Kaninchenlunge. Auf der Ordinate ist die Speicherfähigkeit in % des Kolloidangebotes aufgetragen, auf der Abszisse die Zeit nach Bestrahlung. (Obere Kurve: nach GKB mit 100 R, untere Kurve: nach 600 R GKB.)

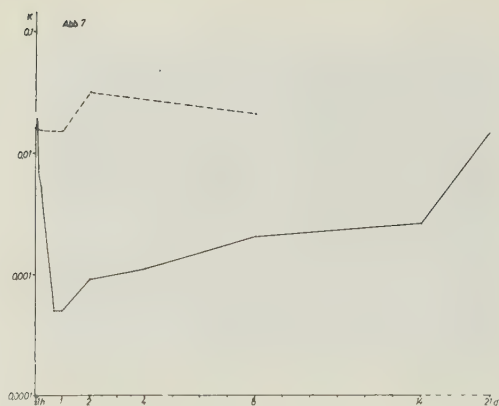


Abb.7: Änderung der Phagocytoseindices nach GKB mit 100 R (obere Kurve) und mit 600 R (untere Kurve) .

Literaturzusammenstellung

- 1) Altschul, R., A. Hofer u.J.D.Stephen Arch. Bioch. 54, 558 (1955)
- 2) Anders, H. u. Z. Leitner Klin.Wschr. 1097 (1932)
- 3) Aschoff, L. Erg.Inn.Med. 26, 1 (1924)
- 4) Asher, L. Klin.Wschr. 3,308 (1924)
- 5) Aurand, K., W. Jakobi u. A. Schraub Gast.Int.Symposium 1956
- 6) Baldridge, C.W. u.R.W.Gerard Am.J.Physiol.103, 235 (1933)
- 7) Bargmann, W. Histologie u. Mikroskopische Anatomie des Menschen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2. Aufl. 1958, S.304 u. 504
- 8) Baumann, A. u. C. Schilling Klin.Wschr. 1249 (1931)
- 9) Barrow, J.u.J.L.Tullis AMA Arch.Path.53, 391 (1952)
- 10) Barrow, J.u.J.L.Tullis u.F.Chambers Am.J.Physiol. 164,822 (1951)
- 11) Becker, J.u.Th. Fliedner In: Fellingner u.Vetter, Bd 3, S.1 (1958)
- 12) Belsasso, E., A. Risolo u. V. Zucconi Minerva Med.2, 518 (1951)
- 13) Benacerraf, B., G.Biozzi, B.N. Halpern, C. Stiffel u.D.Mouton Brit.J.Exper. Path.38,35 (1957)
- 14) Benacerraf, B., G. Biozzi, B.N. Halpern u.C.Stiffel The Physiopathology of the RE Blackwell, Oxford, 1957, S.52
- 15) Benacerraf, B., B.N.Halpern, G. Biozzi u.S.A.Benos Brit.J.Exper.Path.35,97 (1954)
- 16) Benacerraf, B., B.N.Halpern, C. Stiffel, S.Cruchand u.G.Biozzi Ann.Inst.Pasteur 89,601 (1955)
- 17) Benacerraf, B., C. Stiffel, G. Biozzi u.B.N.Halpern C.R.S.Biol.Med.48,486 (1954)
- 18) Benhamon, J.P., F.Nicollo, A. Loverdi u.R.Fauvert In: Fellingner u.Vetter, Bd.3, S. 125 (1958)
- 19) Bergeder, H.D. Strahlenther. 115, 90 (1961)
- 20) Bergeder, H.D. Strahlenther. 114,406 (1961)
- 21) Bernick, S., C.Hyman u.R.L. Halding Anat. Rec. 126, 213 (1956)
- 22) Berry, J.L., Davis u.T.Spies J.Labor.Clin.Med.30,910 (1945)
- 23) Berry, J.L., R.W.Starr u.E.C. Haller J.Bact. 57, 603 (1949)
- 24) Biozzi, G., B.Benacerraf, P. Grumbach, B.N.Halpern u.N.Rist Ann.Inst.Pasteur 87,291,(1954)
- 25) Biozzi, G., B.Benacerraf u.B.N. Halpern Brit.J.Exper.Path.34, 441(1953)
- 26) Biozzi, G., B.Benacerraf, B.N. Halpern u.D.Mouton Ann.Inst.Pasteur92, 89 (1957)
- 27) Biozzi, G., B.N.Halpern, B. Benacerraf u.C.Stiffel The Physiopathology of the RES, Blackwell,Oxford 1957, S.204

- 28) Bieling, R.u.S.Isaac Z. ges.exper.Med. 28, 180 (1922)
- 29) Bloom, W. Histopathology of irradiation from internal and external sources. - McGraw Hill Book Comp. Inc., NY 1958
- 30) Brauer, R.W., R.J.Holloway u.G.F.Leong Am.J.Physiol. 189, 24 (1957)
- 31) Brauer, R.W., G.F.Leong, R.F. McElroy u.R.F.Holloway Am.J.Physiol. 184, 593 (1956)
- 32) Büchner, F. Klin.Wschr. 1058 (1932)
- 33) Bull, C.G. J.Exper. Med. 22, 575 (1915)
- 34) Calo, A. Strahlenther. 46, 529 (1933)
- 35) Callerio, G. Radiol.Med. 18, 768 (1931)
- 36) Chrom, S.A. Acta Radiol. 16, 641 (1935)
- 37) Cienkowski Arch. mikrosk.Anat. 1, 203 (1866)
- 38) Cole, J., M.C.Fisher u.V.P.Done USNRDL - 370 (1952)
- 39) Cole, J.u.M.E.Ellis USNRDL - 378 (1952)
- 40) Cooper, C.B. u.W.Neurath J. Physiol.Chem. 47, 383 (1943)
- 41) Cottier, H. Strahlenbedingte Lebensverkürzung.-Springer Verlag, Berlin-Göttingen - Heidelberg 1961, S.391
- 42) Cronkite, E.P. In: BEHRENS, Atomic Medicine, 1948, S. 103
- 43) Craddock, C.G.u.J.S.Lawrence J.Immunol. 60, 241 (1948)
- 44) Csefko, I. Pediatr. Danubiana 2, 10 (1947)
- 45) Cutler, I.I. u.E.R.Gabrieli Fed.Proc. 13, 1 (1954)
- 46) Derman, G.L. Virchows Arch. 267, 73 (1928)
- 47) Dietz, W. u.K.Damminger Atompraxis 5, 353 (1959)
- 48) Doan, C.A. Bull. NYAcad.Med. 25, 625 (1949)
- 49) Dobson, E.L. The Physiopathology of the RES. Blackwall, Oxford 1957, S.80
- 50) Dobson, E.L., J.W.Gofman, H.B. Jones, Kelly u.L.A.Walker J. Lab. Clin.Med. 34, 305 (1949)
- 51) Dobson, E.L. u.H.B.Jones Acta Med.Scand. 144, Suppl.273 S.1 (1952)
- 52) Drinker, C.K., E.D.Churchill u.F.M.Ferry Am.J.Physiol. 77, 590 (1926)
- 53) Drinker, C.K. u.L.A.Shaw J. Exper.Med. 33, 77 (1921)
- 54) Dixon, F.J. J. Allergy 26, 487 (1954)
- 55) Eggstein, W.u.H.Hundshagen Klin.Wschr. 33, 14 (1955)
- 56) Ehrich, W.E. Klin.Wschr. 33, 315 (1955)
- 57) Ernst, H., E.Iglauer, H. Kronschwitz u.E.Spode Strahlenther. 107, 382 (1958)
- 58) Feigenbaum, L., S.O.Byers u. M.Friedmann Proc. Soc. Exper. Biol.Med. NY 85, 530 (1954)
- 59) Fellinger, K.u.H.Vetter Radioakt.Isotope i.Klinik u.For-schung Bd I-III, Sonderbde z. Strahlenth. 33, 36 u. 38, Urban u. Schwarzenberg, Bln, 1955, 56 u. 58

- 60) Fenn, W.C. J.Gen.Physiol. 3, 575 (1920/21)
- 61) Fenn, W.C. J.Gen.Physiol. 4, 331 (1921/22)
- 62) Fenn, W.C. J.Gen.Physiol. 5, 164 (1923)
- 63) Finney, C.R.u.E.L.Dobson zit. nach DOBSON (s.Nr.49)
- 64) Fishman, M.u.J.L.Shechmeister J.Exper. Med. 101, 259 u.275 (1955)
- 65) Francis, G.E., W.Mulligan u.A.Nature Wormall 167, 748 (1951)
- 66) Fresen, O. Klin.Wschr. 124/25, 100 (1946/47)
- 67) Fresen, O. Verh. Dt.Ges.Path.37, 26 (1954)
- 68) Friedmann, M., S.O.Byers u.R.H. Am.J.Physiol. 177, 77 (1954)
Rosenman
- 69) Freund, R. Virchows Arch. 286, 526 (1932)
- 70) Gabrieli, E.R. Acta Physiol.Scand.23, 283 (1951)
- 71) Gabrieli, E.R. Fed.Proc. 13, 51 (1954)
- 72) Gabrieli, E.R.u.A.A.Auskaps Y.J.Biol.Med. 26, 159 (1953)
- 73) Gabrieli, E.R.u.H.Holmgren Acta Path.Microbiol.31, 195 (1952)
- 74) Gersh, J. Anat. Rec. 70, 331 (1938)
- 75) Gilbert, A. u.J. Jomier Arch. Med.Exper. 20, 156, (1908)
- 76) Glenn, I.C.Jr. J. Immunol. 52, 65 (1946)
- 77) Glenn, I.C.Jr. J. Immunol. 53, 95 (1946)
- 78) Gofman, J.W. J. Lab.Clin.Med.34, 297 (1949)
- 79) Good, R.A.u.L.Thomas J.Exper.Med. 96, 625 (1952)
- 80) Gordon, A.S. Fed. Proc. 5, No.1 (1946)
- 81) Gordon, L.E., D.B. Cooper u. C.F.Miller Proc. Soc. Exper.Biol.Med.89, 577 (1955)
- 82) Graul, E.H. u.H.Hundeshagen Strahlenschutz, Heft 4
- 83) Graul, E.H. u.H.Hundeshagen Strahlenther. 106, 405 (1958)
- 84) Graul, E.H. u.H. Hundeshagen Atompraxis 7, 181, (1961)
- 85) Graul, E.H. u.H. Hundeshagen K. Joseph Strahlenther. 118, 1 (1962)
- 86) Gydell, K. Acta Med. Scand. 162, 9 (1958)
- 87) Haan, J. de Dt. Med. Wschr. 130 (1918)
- 88) Halpern, B.N. In: Acquisition Medicales Récentes. Ed. Flammarion 1956
- 89) Halpern, B.N., B. Benacerraf u. G. Biozzi Brit.J.Exper. Path.34, 426 (1953)
- 90) Halpern, B.N., G. Biozzi, B. Benacerraf u.C.Stiffel Am.J.Physiol. 189, 520 (1957)
- 91) Halpern, B.N., G. Biozzi, B. Benacerraf, C.Stiffel u. B.Hillemand C.R.S. Biol.Med.150, 1307 (1956)
- 92) Halpern, B.N., G.Biozzi, G. Mene u.B.Benacerraf Ann.Inst.Pasteur 80, 582 (1951)
- 93) Halpern, B.N., G.Biozzi u. C. Stiffel UNESCO /NS / 169, Paris (1957)

- 94) Halpern, B.N., P.Dick, G. Biozzi u.G.Mene C.R.S. Biol.Med. 145, 503 (1951)
- 95) Halpern, B.N., B.Benacerraf, G.Biozzi u.C.Stiffel Rev. d'Hematol. 9, (1954), 624
- 96) Hamburger, J.H. Physikalisch-Chemische Untersuchungen der Phagocyten. Bergmann, Wiesbaden 1912; zit. nach LUBARSCH (Nr. 126)
- 97) Hammond, C.W. u.C.D.Miller Rad. Res. 3, 191 (1955)
- 98) Hanke, H. Z.Exper.Med. 85, 623 u. 653 (1932)
- 99) Harrington, H.C.u.C.Huggins Arch.Int.Med. 63, 445 (1939)
- 100) Hayer, E. Strahlenther. 44, 682 (1932)
- 101) Hayer, E. Strahlenther. 50, 193 (1934)
- 102) Held, A. Z.Exper. Med. 88, 733 (1933)
- 103) Heller, J.H. Science 118, 353 (1953)
- 104) Heller, J.H. The Physiology of the RES. Blackwell, Oxford 1957, S.43
- 105) Hess, Fr. Habilitationsschrift Marburg 1960
- 106) Höfer, R. In: Physiologie u.Physiopathologie der weißen Blutzellen. Georg Thieme Verlag 1959 S.304-14
- 107) Höfer, R. u. H.Vetter In: Fellingner u.Vetter Bd III, S. 115
- 108) Holloway R.J., G.F.Leong, R.F.McElroy u.R.W.Brauer Fed. Proc. 14, 353 (1955)
- 109) Hyman, C. u.R.C.Palding Am.J.Physiol. 179, 594 (1954)
- 110) Jaffé, R.H. In: H.Down, Handbook of Hematology Bd 2, S.973
- 111) Jaffé, R.H. u.S.A.Levinson Am.Rev.Tuberc. 11, 217 (1928)
- 112) Jancso, N.v. Z.Exper.Med. 56, 135 (1927)
- 113) Jancso, N.v. Klin.Wschr. 10, 537 (1931)
- 114) Jolly, M. u.E.Barbu Soc. Chim.Biol. 31 (1949)
- 115) Jones, H.B., C.J.Wrobel u. W.R.Lyons J. Clin.Invest. 28, 783 (1944)
- 116) Kaznelson, P. Berlin.Klin.Wschr. 29, 1451 (1916)
- 117) Kiyono, K. Die vitale Karminspeicherung. Jena 1914
- 118) Koga, J. Strahlenther. 47, 201 (1933)
- 119) KoKo Gyl, D.M.Donaldson u. S.Marcus Fed. Proc. 14, 97 (1955)
- 120) Krook, H. Acta Med. Scand. 156 (Suppl.318) (1956)
- 121) Lacassagne, A. C.R.Acad.Sci. 215, 231 (1942)
- 122) Lahr, T.N., R.Olsen, G.J. Gleason u.D.L.Tabern J. Lab.Clin.Med. 45, 66 (1955)

- 123) Letterer, E. Klin.Wschr. 12, 597 (1933)
- 124) Letterer, E. Z.Exper.Med. 93, 89 u.103 (1934)
- 125) Lewis, L.A. Am.J.Physiol. 179, 285 (1954)
- 126) Lubarsch, O. Klin.Wschr. 4, 1248 (1925)
- 127) Lund, C.C., L.A.Shaw u. C.K.Drinker J.Exper.Med. 33, 231 (1921)
- 128) Di Luzio, N.R. Am. J. Physiol. 181, 595 (1955)
- 129) Di Luzio, N.R., K.A.Simon u.A.C.Upton Am.Arch.Path. 64, 649 (1957)
- 130) Di Luzio, N.R., u.D.B.Z. Zilversmit Am.J.Physiol. 180, 563 (1955)
- 131) Metschnikoff, E. Biol.Centr. 3, 560 (1883)
- 132) Metschnikoff, E. In: Handbuch der Bakteriologie. (Kolle-Wassermann) Bd 2, 1908
- 133) Miescher, P. In: The Physiopathology of the RES Blackwell, Oxford 1957, S.147
- 134) Mischtschenko, J.P. Strahlenther. 32, 154, (1929)
- 135) Mudd, M., McCutcheon u.B. Lucké Physiol.Rev. 14, 210 (1934)
- 136) Mudd, M. u.S.Mudd J. Gen.Physiol. 16, 625 (1933)
- 137) Netter, H. Theoretische Biochemie, Springer Verlag, 1959, S. 732
- 138) Neufeld, F. Arb. Ksl. Gesundheitsamt, 27 414 (1908)
- 139) Neukomm, S., P.C.Lerch u. C. Jallut In: the Physiopathology of the RES. Blackwell, Oxford, 1957, S.115
- 140) Neurath, H., G.R.Cooper u.F.U.Erichson J.Biol.Chem. 138, 411 (1941)
- 141) Neven, T., G.Biozzi, B. Benacerraf u.B.N.Halpern Am.J.Physiol. 187, 269 (1956)
- 142) Nicol, T. u.D.L.Bilbey Nature (London) 179, 1137 (1957)
- 143) Nöller, H.G. Ärztl.Forsch. 10, 373 (1956)
- 144) Odeblad, E., E.L.Dobson, A.M.Odeblad u.H.B.Jones Am.J.Physiol. 181, 210 (1955)
- 145) Okuneff Bioch.Z. 195, 28 (1928)
- 146) Pape, A. u.Jellinek Rad. Austr. 1, 59 (1948)
- 147) Pape, A. u.A.Piringer-Kutschinka Strahlenther. 101, 523 (1956)
- 148) Piepenborn, J. Strahlenther. 33, 322 (1929)
- 149) Pirrie, R. J. Pathol.Bact. 64, 211 (1952)
- 150) Plumier Arch.Int.Physiol. 1, 176 (1904)
- 151) Pohle, E.A.u.G.Ritshie Am.J.Roentgen 231, 512 (1934)
- 152) Pohle, E.A. u.Bunting Strahlenther. 57, 121 (1936)
- 153) Policard, A. In: The Physiopathology of the RES. Blackwell, Oxford 1957, S.12
- 154) Policard, A. Le Poumon.Masson Cie., Paris 1955

- 155) Ponder, E. J. Gen.Physiol. 11, 757 (1928)
- 156) Radt, P. Verh. Dt.Ges.Inn.Med. 443 (1931)
- 157) Randerath, R.u.W.Schlesinger Z.Exper.Med. 80, 245 (1932)
- 158) Reichard, S.M., A.Edelmann u. S.A.Gordon Endocrinology 59, 55 (1956)
- 159) Reichard, S.M., A.Edelmann u.S.A.Gordon J.Lab.Clin.Med. 48, 431 (1956)
- 160) Rhumbler, G. Ergebn.Physiol. 14, 474 (1914)
- 161) Ribbert, H. Z.Allg.Physiol. 4, 201 (1904)
- 162) Riley, R.F., M.K.Coleman u. Rad.Res. 13, 148 (1960)
F.Hokama
- 163) Rischke, K. Frankf.Z.Path. 46, 557 (1934)
- 164) Rohr, K. Das Menschliche Knochenmark.
Thieme Verlag, Stuttgart, 1949
S.59 - 74
- 165) Rous, P. u.D.H.Robertson J. Exper. Clin. Med. 25, 651 (1917)
- 166) Scherer, E. Habilitationsschrift Marburg 1956
- 167) Schoenig, A. Strahlenther. 33, 55 (1929)
- 168) Schulemann Biochem.Z. 80, 1 (1917)
- 169) Schwienhorst, H. Beitr. Path. Anat. 81, 375 (1928)
- 170) Sheppard, C.W., G.Jordan Am.J.Physiol. 164, 345 (1951)
u.P.F.Nahn
- 171) Sheppard, C.W., E.B.Wells, J.Lab.Clin.Med. 32, 274 (1947)
P.F.Nahn u.J.P.E.Goodell
- 172) Siegmund, F. Klin.Wschr. 2566 (1922)
- 173) Singer, K. u.L.Weisz Am.J.Med.Sci. 210, 301 (1945)
- 174) Smith, R.T., L.Thomas u. R.A.Good Proc. Soc. Exper. Biol.Med. 82, 712
(1953)
- 175) Starkenstein, E.u.F.Weden Arch.Exper.Path.Pharmakol. 134, 274
(1928)
- 176) Stenbridge, V.A., R.M. Kinsely u.W.Gibbs Lab.Invest. 2, 349 (1953)
- 177) Stender, H.-St. Strahlenther. 107, 12 (1958)
- 178) Tait, J. Quart. J. Exper. Phys. 12, 1 (1918)
- 179) Taplin, G.V., C.Finnegan, Am.J.Roentgen. 71, 294 (1954)
P.Noyes u.G.Sprague
- 180) Thomas, L.u.R.A.Good J. Exper.Med. 95, 409 (1953)
- 181) Tompkins u.Grillo Am.J.Pathol. 29, 217 (1953)
- 182) Tullis, J.G. Milit. Surg. 108, 271 (1951)
- 183) Tullis, J.G. Am. J. Path. 25, 829 (1949)
- 184) Tzuzuki, M. Am. J. Roentgen. 16, 134 (1926)
- 185) Vanotti, A. u.A.Inholz Z.Ges.Exper.Med. 106, 597 (1939)
- 186) Vetter, H., Falkner u.A. Neumayer J.Clin.Invest. 33, 1594 (1954)
- 187) Waddel, W.F., R.P.Geyer, E. Am.J.Physiol. 177, 90 (1954)
Clarke u.F.J.Stare
- 188) Warner, G.F.u.E.L.Dobson Am.J.Physiol. 179, 93 (1954)

- 189) Weikel, J.H. u.L.M.Lusky J.Pharmakol.Exper.Ther. 118, 148
(1956)
- 190) Windholz, F. Strahlenther. 58, 406 (1937)
- 191) Wish, L., J. Furth, C.W. A.J.Roentgen. 67, 628 (1952)
Sheppard u.H.Storey
- 192) Wohlwill, F.J. u.W.W.Jetter Am.J.Path. 29, 721 (1953)
- 193) Wood, W.B., M.R.Smith u. J.Exper.Med. 84, 387 (1946)
B. Watson
- 194) Zacherl, K. Strahlenther. 33, 515 (1929)
- 195) Zilversmit, D.B., G.A. Boyd J.Lab. Clin.Med. 40, 255 (1952)
u. M. Brucer

Lebenslauf.

Am 19. Juli 1934 wurde ich in Göttingen geboren. Meine Kindheit verbrachte ich in Witzenhausen, wo ich auch zunächst die Volksschule, später die Mittelschule besuchte. Im April 1949 wechselte ich auf das Humanistische Max-Planck-Gymnasium in Göttingen über, wo ich am 28.2.1955 das Reifezeugnis erhielt. Im SS 1955 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Philipps-Universität Marburg. Zum 4. Semester schrieb ich mich an der Universität Würzburg ein, wo ich nach dem SS 1957 das Physikum ablegte.

Zu Beginn des 2. klinischen Semesters kehrte ich an die Universität Marburg zurück. Hier beendete ich im Januar 1961 das medizinische Staatsexamen.

Meine Pflichtassistentenzeit verbrachte ich an den Universitätskliniken in Marburg und im Marien-Hospital in Bottrop. Mit Wirkung vom 1.V.1963 erhielt ich die Approbation als Arzt. Vom 1. Mai 1963 bis zum 31. Januar 1964 war ich in der Inneren Abteilung des Marienhospitals in Bottrop beschäftigt. Zum Februar 1964 kehrte ich nach Marburg zurück, wo ich als Verwalter einer wiss. Assistentenstelle in der Abteilung für Strahlenbiologie und Isotopenforschung arbeite.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

in Marburg:

Berendes, Bock, Bücher, Dimroth, Ehrhardt, Exner, Förster, Gaul, Gross, Hamm, Hartmann, Heberer, Heite, Hensel, Heuser, Hildebrandt, Hornung, Huber, Illig, Jakob, Kalkoff, Kyrieleis, Linneweh, Linzbach, Mahr, von Manger-König, Maurath, du Mesnil de Rochemont, Meyer, Müller, Neubauer, Niessing, Nieth, Petry, Pirson, Prinz, Scherer, Schmid, Schölmerich, Schrappe, Schwaiger, Seidel, Siegert, Stein, Walcher, Wendt, Würterle, Zenker;

in Würzburg:

Autrum, Burger, Dhom, Dubrausky, Heinrich, Kulenkampff, Leuner, Naumann, Neubert, Neuhaus, Roedig, Wachsmuth, Wöhlisch, Wollheim, Zissler.

